

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

THÈSE

ANNEE 1968

N°

90

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLÔME D'ÉTAT)

PAR

Denys HOUSSAY

Né le 16 mai 1938 à Paris 7e

Ancien Externe des Hôpitaux de Paris

PRÉSENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE

ETUDE DE LA PHYSIOLOGIE DES CELLULES ANIMALES
PAR LA MICROCHIRURGIE

Président : Jean BERNARD, Professeur.

ÉDITIONS A.G.E.M.P. 40 RUE PASCAL PARIS

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

THÈSE

ANNEE 1968

N°

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLÔME D'ÉTAT)

PAR

Denys HOUSSAY

Né le 16 mai 1938 à Paris 7^e

Ancien Externe des Hôpitaux de Paris

PRÉSENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE

ETUDE DE LA PHYSIOLOGIE DES CELLULES ANIMALES
PAR LA MICROCHIRURGIE

Président : Jean BERNARD, Professeur.

ÉDITIONS A.G.E.M.P. 40 RUE PASCAL PARIS

PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. Alajouanine (T.), Bénard (H.), Bernard (E.), Binet (L.), Bulliard (H.), Cathala (J.), Chabrol (E.), Chailley-Bert (P.), Cheymol (J.), Debré (R.), Fey (B.), Galliard (H.), Gaudart d'Allaines (F. de), Gennes (L. de), Giroud (A.), Hazard (R.), Heuyer (G.), Laroche (G.), Lavier (G.), Lelong (M.), Lévy (M^{lle} J.), Lévy-Solal (E.), Lian (C.), Marchal (G.), Mathieu (P.), Monod (R.), Moreau (R.), Moulouquet (P.), Pasteur Vallery-Radot, Petit-Dutaillis (D.), Piédelièvre (R.), Quénu (J.), Renard (G.), Senèque (J.), Strohl (A.), Tanon (L.), Verne (J.).

DOYEN Georges BROUET.

1^{er} ASSESSEUR Daniel BARGETON

2^e ASSESSEUR Jean GOSSET

I. — PROFESSEURS

1^o CHAIRES DE SCIENCES FONDAMENTALES

a) Professeurs titulaires :

MM.

Anatomie	DELMAS (A.)
—	HUARD (P.)
Anatomie et cytologie pathologiques	DELARUE (J.)
Anesthésiologie	VOURC'H (G.)
Bactériologie et virologie	TOURNIER (P.)
Biochimie médicale	JAYLE (M.-F.)
—	POLONOVSKI (J.)
—	DESGREZ (P.)
Biologie appliquée à l'Education physique et aux Sports	MALMEJAC (J.)
Biologie médicale	FAUVERT (R.)
Biophysique médicale	BUGNARD (L.)
—	DOGNON (A.)
—	DJOURNO (A.)
Cancérologie expérimentale	MATHÉ (G.)
Chimie pathologique	SCHAPIRA (G.)
Génétique fondamentale	LEJEUNE (J.)
Histoire de la médecine et de la chirurgie	GOURY (Ch.)
Histologie et Embryologie	TUCHMANN-DUPLESSIS (H.)
—	COUJARD (R.)
Hygiène et médecine préventive	BOYER (J.)
Médecine du Travail	DESAILLE (H.)
Médecine légale, Droit médical et déontologie	DEROBERT (L.)
Microbiologie (Bactériologie et virologie)	FASQUELLE (R.)
Parasitologie	N...
Pathologie chirurgicale	LAURENCE (G.)
—	KUSS (R.)
—	VERNE (J.-M.)
Pathologie exotique	BRUMPT (L.-G.)
Pathologie expérimentale et comparée	MERKLEN (F.-P.)
Pathologie médicale	LAROCHE (Cl.)
—	BRICAIRE (H.)
—	PÉQUIGNOT (H.)
Pathologie respiratoire	TURIAF (J.)
Pathologie et thérapeutique générales	MAURICE (P.)
Pharmacologie	BOISSIER (J.-R.)
—	LECHAT (P.)
Physiologie	BARGETON (D.)
—	PARROT (J.)
Physiologie et pathologie obstétricales	LEPAGE (F.)
Radiologie médicale	DESGREZ (H.)

Technique chirurgicale et Chirurgie expérimentale	MM. N...
Thérapeutique	LAMOTTE (M.)
Thérapeutique appliquée	N...

b) Professeurs à titre personnel :

Anatomie	CABROL (Ch.)
Anatomie anthropologique	OLIVIER (G.)
Anatomie pathologique	NEZELOF (Ch.)
Bactériologie	BARBIER (P.)
Biochimie médicale	DREYFUS (J.-Cl.)
Biologie médicale	BOURLIÈRE (F.)
Parasitologie	LARIVIÈRE (M.)
Pathologie expérimentale	LOEPER (J.)
Physiologie	DEJOURS (P.)
	SCHERRER (J.)
	KELLERSHOHN (L.)
Physique médicale	GOUGEROT (L.)
	ROUCAYROL (J.-Cl.)
	TUBIANA (M.)
Radiologie médicale	FISCHGOLD (H.)

2° CHAIRES DE SCIENCES CLINIQUES

a) Professeurs titulaires :

	MM.
Clinique carcinologique	DENOIX P.
Clinique carcinologique chirurgicale (Necker)	REDON (H.)
Clinique cardiologique (Broussais)	SOULIÉ (P.)
— — (Boucicaut)	LENÈGRE (J.)
	LORTAT-JACOB (J.-L.)
	BAUMANN (J.)
Cliniques chirurgicales	LEGER (L.)
	PATEL (J.)
	GOSSET (J.)
	SICARD (A.)
	OLIVIER (Cl.)
Clinique chirurgicale orthopédique et traumatologique (Cochin)	MERLE d'AUBIGNÉ (R.)
— — — (Foch)	PADOVANI (P.)
— — — (Beaujon)	CAUCHOIX (J.)
Clinique de chirurgie infantile et orthopédique (Enfants-Malades)	FÈVRE (M.)
Clinique de chirurgie cardio-vasculaire (Broussais)	DUBOST (Ch.)
Clinique de chirurgie thoracique (Laennec)	MATHEY (J.)
Clinique dermatologique (Saint-Louis)	DUPERRAT (F.)
Clinique endocrinologique (Pitié)	DECOURT (J.)
Clinique de Génétique médicale (Enfants-Malades)	LAMY (M.)
Clinique chirurgicale et gynécologique (Broca)	HUGUIER (J.)
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques (Saint-Louis)	DEGOS (R.)
Clinique des maladies des enfants (Enfants-Malades)	TURPIN (R.)
Clinique des maladies infectieuses (Claude-Bernard)	MOLLARET (P.)
Clinique des maladies mentales et de l'encéphale (Sainte-Anne)	DELAY (J.)
Clinique des maladies du sang (Broussais)	BERNARD (J.)
Clinique des maladies du système nerveux (Salpêtrière)	CASTAIGNE (P.)
	DEPARIS (M.)
	MILLIEZ (P.)
	N...
Cliniques médicales	BARIÉTY (M.)
	DREYFUS (G.)
	CONTE (M.)
	KOURILSKY (R.)
	BOUDIN (G.)

Clinique d'hydrologie et de climatologie (Bichat)	DEBRAY (Ch.)
Clinique médicale infantile et pédiatrie sociale (Enfants-Malades)	MARIE (J.)
Clinique médicale propédeutique (Broussais)	JUSTIN-BESANÇON (L.)
Clinique médico-sociale du diabète sucré et des maladies métaboliques (Hôtel-Dieu)	DEROT (M.)
Clinique néphrologique (Necker)	HAMBURGER (J.)
Clinique de neuro-chirurgie (Pitié)	DAVID (M.)
Clinique neurologique (Salpêtrière)	GARCIN (R.)
Cliniques obstétricales	LACOMME (M.)
Baudelocque	MERGER (R.)
Saint-Antoine	VARANGOT (J.)
Clinique obstétricale et gynécologique (Port-Royal)	OFFRET (G.)
Clinique ophtalmologique (Hôtel-Dieu)	BREGEAT (P.)
— — (Cochin)	AUBRY (M.)
Clinique oto-rhino-laryngologique (Lariboisière)	MOZZICONACCI (P.)
Clinique de pédiatrie (Trousseau)	THIEFFRY (S.)
Clinique de pédiatrie et de puériculture (Saint-Vincent-de-Paul)	BROUET (G.)
Clinique de pneumo-phthisiologie (Laennec)	MICHAUX (L.)
Clinique de neuro-psychiatrie infantile (Salpêtrière)	COSTE (F.)
Clinique de rhumatologie médicale et sociale (Cochin)	SÈZE (S. de)
Clinique de rhumatologie (Lariboisière)	DECHAUME (M.)
Clinique stomatologique (Salpêtrière)	ROUX (M.)
Clinique thérapeutique chirurgicale (Vaugirard)	LEMAIRE (A.)
Clinique thérapeutique médicale (Saint-Antoine)	GAULTIER (M.)
Clinique toxicologique (F. Vidal)	JUDET (R.)
Clinique traumatologique et orthopédique (R.-Poincaré)	ABOULKER (P.)
Clinique urologique (Cochin)	COUVELAIRE (R.)
— — (Necker)	LAPLANE (R.)
Hygiène et clinique de la première enfance (Trousseau)	DOMART (A.)
Sémiologie médicale (A. Chantin)	BOUVRAIN (Y.)
— — (Lariboisière)	RAMBERT (P.)
— — (Pitié)	WOLFROMM (R.)
— — (Rothschild)	POILLEUX (F.)
Sémiologie et clinique chirurgicales (Broussais)	

b) Professeurs à titre personnel :

Hématologie	ANDRÉ (R.)
	BOUSSER (J.)
Hydrologie et climatologie	GIBERTON (A.)
Maladies infectieuses	BASTIN (R.)
	AZERAD (E.)
	BOUR (H.)
	CAROLI (J.)
	DREYFUS (B.)
	GROSSIORD (A.)
Médecine	LAMBLING (A.)
	LAUNAY (Cl.)
	PAYET (M.)
	PERRAULT (M.)
	SIGUIER (F.)
	WORMS (R.)
Néphrologie	RICHEL (G.)
Neuro-chirurgie	LE BEAU (J.)
Neurologie	LHERMITTE F.
Neuro-psychiatrie	PICHOT (P.)
Oto-Rhino-Laryngologie	MADURO (R.)
	POLONOVSKI (Cl.)
Pédiatrie	ROYER (P.)
	KREIS (B.)
Pneumo-Phthisiologie	MEYER (A.)
Rhumatologie	DELBARRE (F.)

II. — PROFESSEURS SANS CHAIRE

	MM		MM.
Anatomie pathologique	GOUYER (Ch.)	Maladies infectieuses	DUPONT (V.)
Bactériologie	CHRISTOL (D.)	Neuro-psychiatrie	TARDIEU (G.)
Biochimie médicale	{ CARTIER (P.) GONNARD (P.) NORDMANN (J.)	Pédiatrie	ROSSIER (A.)
Biologie médicale	HARTMANN (L.)	Physique médicale	{ COURSAGET (J.) GREMY (F.)
Chirurgie	CERBONNET (G.)	Physiologie	GIRARD (Fr.)
Hématologie	BILSKI-PASQUIER (G.)	Stomatologie	CHAPUT (M ^{me} A.)

III. — PROFESSEURS DÉTACHÉS DANS LES UNIVERSITÉS ÉTRANGÈRES

Bactériologie	HAUDUROY (P.) Pr. s. ch.
Pathologie chirurgicale	RUDLER (J.) Pr. s. ch.

IV. — PROFESSEURS ASSOCIÉS

Hormonologie	MORICARD (R.)
Statistique médicale et épidémiologique	SCHWARTZ (D.)

Secrétaire général de la Faculté	M. LENA (J.)
Conseiller administratif	Mlle CHAINTREUIL (G.)
Conservateur en Chef de la Bibliothèque	{ M. le Docteur HAHN (A.)
Conservateur du Musée d'Histoire de la Médecine	
Conservateurs	{ Mlles DUMAITRE (P.), LAURENT (H.), LE NOIR (G.)
Bibliothécaires	{ Mmes CONTET (J.), FORGET (F.), Mlles DUROZOY (M.-F.), ROBERGE (D.), Dr SCHILLER (J.)

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A mes Maîtres :

Mm. BARIETY

QUENU

BOUR

MATHEY

COSTE

BROUET

LHERMITE

DEGOS

MOLLARET

DUFOURMENTEL

ANDRE

GARCIN

GAULTIER

RICHET

CONTE



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554024_0023

Au Professeur Jean BERNARD

qui m'a appris en même temps que l'hématologie ce qu'était la recherche médicale et l'honnêteté intellectuelle qu'elle exige.

Qu'il trouve ici l'expression de ma respectueuse admiration et mes remerciements pour avoir accepté la présidence du Jury de cette thèse.

Au Professeur Marcel BESSIS

qui a eu l'extrême gentillesse de me guider pendant toute la durée de mes études médicales et qui a bien voulu me donner le sujet de ce travail. Il m'a engagé dans la voie de la recherche dont il m'a enseigné les méthodes et les buts.

Qu'il veuille bien accepter le témoignage de ma profonde gratitude et de mon respectueux dévouement.

A mes collaborateurs et amis de l'Institut de Pathologie Cellulaire et tout spécialement à Monsieur Michel PRENANT qui a bien voulu me faire profiter de ses connaissances en microchirurgie et à Mademoiselle S. DAMERON dont l'aide m'a été si précieuse.

Qu'ils soient ici remerciés.

SOMMAIRE

I - INTRODUCTION

II - PRINCIPAUX APPORTS DE LA MICROCHIRURGIE AUX CONNAISSANCES ACQUISES SUR LA CELLULE ANIMALE.

1 - Les précurseurs

2 - La technique chirurgicale

A - Les micromanipulateurs

B - Les microinjecteurs

C - La fabrication des instruments

D - Différents outils utilisables en microchirurgie

E - La chambre d'opération

F - Le matériel cellulaire. Les milieux de culture et d'opération

G - Méthodes particulières pouvant être adaptées à la microchirurgie

3 - Les propriétés physico-chimiques de la cellule

A - Appréciation de la consistance et réactions à la pique

B - Appréciation du pH et des oxydoréductions intracellulaires

C - Propriétés de la membrane cellulaire

D - Cicatrisation de la membrane cellulaire

E - La fragilité du noyau des cellules de métazoaires

4 - Les relations nucléo-cytoplasmiques

A - Les méthodes d'étude

B - Conséquences de l'absence du noyau

C - Les relations nucléo-cytoplasmiques

D - Le cas particulier du nucléole

5 - Applications de la microchirurgie à l'embryologie

A - La technique de Briggs et King

B - Greffes homologues à des stades variés de développement de l'embryon

C - Les greffes hétérologues

D - Les expériences de Lorch, Danielli et Höstradius

6 - Etude des cellules en mitose et des chromosomes

A - Structure et physiologie des chromosomes

B - Etude dynamique de la mitose

7 - Données acquises sur la cellule de mammifères.

III - POSSIBILITES ET PROBLEMES ACTUELS DE LA MICROCHIRURGIE

1 - L'état des techniques à l'heure actuelle

A - Les micromanipulateurs

B - Les micro-outils

C - Possibilités et intérêt actuels de la techniques

D - Techniques particulières

2 - Le matériel cellulaire

A - Les protozoaires

B - Les oeufs

C - Les cellules d'insectes.

D - Les cellules d'amphibiens

E - Les cellules de mammifères.

3 - Les conditions de culture et d'opération

- A - Les conditions de culture
- B - Les conditions d'opération
- C - Les milieux de conservation

4 - Les moyens d'évaluation des résultats

- A - La microscopie optique et la microcinématographie
- B - La culture cellulaire
- C - La microspectrophotométrie
- D - La microscopie électronique
- E - La cytochimie
- F - Les injections à l'animal

IV - CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES.

I - INTRODUCTION

Les connaissances accumulées pendant les derniers siècles sur les êtres vivants ainsi que l'amélioration de nos moyens d'observation ont amené médecins et savants à rechercher dans des éléments de plus en plus petits les causes des phénomènes observés dans le monde vivant. A l'étude de l'organisme dans son ensemble a succédé celle des organes puis des cellules; aujourd'hui nous voyons s'ouvrir l'ère de la biologie moléculaire.

A chacune de ces étapes vers le très petit, un processus identique s'est répété : les premières études dans un nouveau domaine ont toujours été descriptives, les chercheurs faisant une sorte d'inventaire, aussi complet que possible, de tous les éléments qui venaient d'entrer dans leur champs d'observation. Ce premier temps anatomique est complété ensuite par la recherche des déterminismes et des causes, c'est l'étape physiologique.

Claude BERNARD fut le premier à bien marquer la nécessité et la complexité de cette recherche du dynamisme de la matière vivante :

" Nous avons montré ailleurs l'insuffisance de l'anatomie seule pour rendre compte des phénomènes de la vie, et nous avons vu qu'il faut encore y ajouter l'étude de toutes les conditions physico-chimiques qui entrent comme éléments nécessaires des manifestations vitales normales et pathologiques. Cette simple indication fait déjà pressentir que le laboratoire du physiologiste médecin doit être le plus compliqué de tous les laboratoires".

Depuis que ces lignes ont été écrites, nous sommes passés, comme nous venons de le dire, de l'étude des organismes et des organes à celle des tissus et des cellules. Mais c'est surtout l'étude de l'anatomie cellulaire qui a retenu l'attention des différents auteurs depuis la fin du siècle dernier. De multiples types cellulaires ont été individualisés et classés, de même les différents organites. La microscopie optique a fourni les premiers éléments et quelques années ont suffi pour que les observations au microscope électronique viennent compléter, presque partout, les premières données morphologiques.

A l'heure actuelle, nous en sommes arrivés au stade de la physiologie cellulaire. De nombreux processus ont déjà été révélés par divers procédés, mais nous ignorons encore la plus grande partie des déterminismes cellulaires.

Si, comme le dit encore Claude BERNARD, "Tous les progrès des sciences expérimentales se mesurent par le perfectionnement de leurs moyens d'investigation", il nous faut utiliser toute une série de nouvelles techniques qui nous permettront d'expérimenter sur la cellule comme les physiologistes expérimentent sur l'organisme entier.

L'une de ces techniques est la micromanipulation. Si elle n'est pas nouvelle, elle a déjà permis d'obtenir nombre de résultats. Les perfectionnements qu'il est actuellement possible de lui apporter lui donnent un renouveau d'intérêt.

C'est l'objet de cette étude que de rassembler les principaux travaux qui ont déjà été effectués par cette méthode. Dans une deuxième partie nous verrons ce que l'on peut attendre de cette technique aujourd'hui et si elle satisfait aux conditions exigées pour une méthode d'étude de la physiologie cellulaire.

Il semble inutile d'insister sur l'importance qu'aura pour la médecine la connaissance des mécanismes intimes de la cellule et la relation de plus

en plus étroite qui existe entre la recherche dite fondamentale et la thérapeutique quotidienne.

Une dernière remarque s'impose : différencier la technique elle-même de son utilisation physiologique ; en effet, les appareils de micromanipulation ont servi à bien d'autres études que celle de la physiologie cellulaire, notamment à des isollements de germes, à des microtechniques en chimie et en physique. Nous n'envisagerons pas ici d'autre objet que l'utilisation de la technique de micromanipulation pour l'étude de la physiologie cellulaire. Nous appellerons microchirurgie cette application particulière de la technique, réservant le terme de micromanipulation aux autres usages de la méthode. Enfin, le premier terme créé par les anciens auteurs pour nommer ce travail microscopique : la micrurgie, sera considérée comme un terme général, englobant à la fois microchirurgie et micromanipulation.

Il faut noter enfin, qu'il n'entre pas dans les buts de ce travail de faire une revue générale de tous les travaux qui ont été effectués grâce à la microchirurgie, mais simplement de se rendre compte des principaux problèmes qui ont pu être résolus avec l'aide de cette technique, et de juger quelle doit être sa place dans l'arsenal des moyens d'exploration de la cellule. Cependant, dans l'intention de faciliter la tâche de ceux qui voudraient se familiariser avec la micrurgie, une bibliographie importante sinon exhaustive a été relevée et répartie selon les différents chapitres de la recherche où la microchirurgie a déjà apporté d'utiles renseignements.

II - PRINCIPAUX APPORTS DE LA MICROCHIRURGIE AUX CONNAISSANCES ACQUISES SUR LA CELLULE ANIMALE

1 - Les précurseurs

C'est de longue date que les divers chercheurs ont pensé intervenir directement sur la cellule vivante. Il était en effet normal, dès que la cellule fut considérée comme une unité biologique universellement reconnue, que l'on essaye de reprendre à son échelle les investigations qui se faisaient sur l'animal entier. Malheureusement, le matériel de cette époque ne permettait pas d'envisager de telles interventions.

Il fallait alors l'invraisemblable virtuosité d'un SCHMIDT (I - 23 à 25) (qui en 1859 isola à la main des noyaux d'hépatocytes), pour espérer un maigre résultat.

C'est en fait CHABRY (I-4, 5, 6) qui franchit la première étape en s'adjoignant un appareillage qui lui permet de démultiplier les déplacements de sa main. Dès ce moment deux des principaux problèmes de la microchirurgie se trouvent posés : comment maintenir l'objet à opérer tout en conservant les conditions nécessaires à sa survie ? Quel appareillage inventer qui permette de réduire l'amplitude des mouvements de la main ? Grâce à un tube capillaire du même diamètre que les oeufs d'Ascidie, sur lesquels il travaille, CHABRY arrive à maintenir suffisamment son matériel expérimental tout en le laissant entouré d'un milieu lui permettant de vivre. Quant à

son appareillage, extrêmement simple, composé d'un filament de verre, d'une épingle et d'un brin de paille, il permet quand même de détruire l'un des blastomères de l'oeuf. La formation expérimentale de "monstres, fractions d'individus" ainsi réalisée est le premier pas franchi vers une embryologie expérimentale des stades initiaux de division de l'oeuf.

C'est plus tard (1906) que Mac CLENDON, à l'aide de son "bras mécanique", de micro-aiguilles et de pipettes, étudie les réactions de l'Amoeba Proteus à la pique et pratique les premières mérotomies (I-12, 13). Si ces expériences sont une première tentative pour opérer une cellule isolée, l'appareillage est pourtant trop sommaire pour permettre d'aborder des cellules de taille normale. C'est au perfectionnement du matériel que se consacrent à la même époque les deux fondateurs de la micrurgie SCHOUTEN (I-26 à 32) et BARBER (I-1 à 3). C'est donc à la fin du siècle dernier et au début de celui-ci que les premiers travaux de microchirurgie à proprement parler vont devenir possibles.

BARBER, en 1904, étudie un dispositif mécanique à vis micrométrique. Il s'agit simplement au début de ses travaux, d'un statif de microscope modifié. Par la suite, il améliorera son dispositif, en réduira la taille et le fixera sur la platine du microscope qu'il utilise pour l'observation. C'est cet appareil qui, amélioré, puis complètement transformé par KITE (I-7 à 11), puis par CHAMBERS, sera à la source du micromanipulateur actuel mécanique de Leitz.

Les travaux de BARBER vont orienter définitivement la micrurgie vers l'utilisation du verre comme matériel instrumental et avec lui débute l'étude du micro-travail du verre qui aboutira grâce à SCHOUTEN, PETERFI et de FONBRUNE à nos connaissances actuelles.

Enfin, il est l'inventeur de la première chambre humide spécialement conçue pour la micromanipulation.

Grâce à tous ces perfectionnements, il peut aborder la cellule avec des instruments à sa taille et des mouvements d'amplitude raisonnable. Il effectuera ainsi des prélèvements de germes isolés et les inoculera à l'animal, enlèvera le noyau de certaines amibes.....

SCHOUTEN va, lui aussi, créer un micromanipulateur à mouvements mécaniques. Sa précision est supérieure à celle de l'instrument de BARBER, car il a accepté de transformer les mouvements de pure translation de l'outil par des mouvements de rotation bien plus réguliers et d'une réalisation technique plus simple. Il a aussi augmenté le nombre des micro-outils utilisables, outre les micro-aiguilles et les pipettes il a réussi à fabriquer des crochets, des anses et des scalpels d'une taille suffisamment petite. Ces fabrications ont été rendues possibles grâce à un dispositif de travail du verre sous le champ du microscope, précurseur en quelque sorte de la microforge de FONBRUNE.

Malgré la finesse de l'appareillage qu'il a conçu, SCHOUTEN l'a essentiellement utilisé pour des travaux de micromanipulation : l'isolement des bactéries à la micro-anse.

Les chercheurs qui viennent après SCHOUTEN et BARBER se contenteront d'apporter quelques améliorations techniques de détail au principe de la micirurgie mécanique et ils continueront à fabriquer leurs instruments à la main ce qui contribuera à créer le mythe de la grande habileté manuelle nécessaire à tout chirurgien. Mais surtout, les chercheurs peuvent maintenant expérimenter et ils ne s'en font pas faute, c'est le cas de PETERFI (I 15 à 22), NAVILLE (I - 14) CHAMBERS et SIEFRIZ (I - 32 à 38) notamment. C'est l'époque où la microchirurgie va pouvoir lever les doutes des cytologistes en affirmant l'existence des membranes cytoplasmiques et nucléaires, où la consistance des différentes cellules sera comparée et où les premières notions sur leur composition chimique interne seront établies. Les stimulations physiques les plus variées seront appliquées aux cellules les plus diverses, qu'elles soient mécaniques (PETERFI, CHAMBERS, SIEFRIZ, VERWORN) (I - 45), électrique ou magnétiques (TAYLOR) (I - 43).

Mais déjà, avec BARBER, CHAMBERS et TAYLOR (I - 39 à 43), apparaissent des études plus précises et surtout davantage orientées vers la physiologie des cellules. C'est en 1924 que TAYLOR et FARBER (I-44) envisagent d'étudier le rôle comparé du micronucléus et du macronucléus chez les euplotes par des expériences de néotomie et d'exérèse, application à la cellule de méthodes depuis longtemps utilisées en physiologie animale. La microchirurgie a désormais atteint son objet : la physiologie cellulaire.

Quittant donc le temps des pionniers nous en arrivons à examiner les possibilités que nous offre la microchirurgie depuis cette époque. La démarche que nous suivrons sera celle qui s'est dégagée des études de ces premiers auteurs.

Nous examinerons d'abord les progrès techniques accomplis puis les études de physiologie cellulaire qu'ils ont permis par la suite.

2 - La technique chirurgicale

La technique de la microchirurgie recouvre des domaines qui pourraient sembler, a priori, sans rapport entre eux. En effet, l'appareil destiné à miniaturiser les mouvements de la main (le micromanipulateur) et la fabrication des micro-outils, paraîtraient résumer toute la technique microchirurgicale, en y adjoignant peut-être la chambre de micro-opération.

Il n'en est rien, car le choix du matériel cellulaire à opérer, son milieu d'opération et de survie sont également des problèmes de technique parfois extrêmement délicats. Enfin, des méthodes tout à fait particulières peuvent parfois être utilisées : micro-irradiation ultra-violette, rayons X ou gamma, LASER ou irradiation corpusculaire, électrosmose, voire même l'action de certains virus permettant l'"hybridation cellulaire".

C'est donc sous différents chapitres, et dans l'ordre que nous venons d'indiquer, que nous envisagerons ces différents problèmes.

A - Les micromanipulateurs

Sans revenir sur ceux de SCHOUTEN, BARBER, KITE et PETERFI, le nombre des différents micromanipulateurs étudiés est immense. Cela montre bien l'extrême difficulté où l'on se trouve pour réaliser l'appareil idéal. Entre 1921 et 1962, les réalisations sont tellement nombreuses qu'il est impossible de toutes les décrire ici (II - 4, 5, 7, 8, 14, 15, 33 à 46, 52 à 54, 64, 68, 78, 81). Nous nous contenterons donc des trois principaux manipulateurs qui demeurent en usage aujourd'hui : le micromanipulateur mécanique de CHAMBERS, celui de FONBRUNE, qui est pneumatique, celui d'ELLIS enfin, dont les mouvements sont assurés par des céramiques piézoélectriques.

Le micromanipulateur de CHAMBERS (II - 15) est un appareil volumineux et lourd permettant des mouvements grossiers dans les trois dimensions de l'espace, assurés par des vis micrométriques. Les mouvements fins horizontaux se font par l'intermédiaire d'une sphère excentrée à laquelle est fixé le levier de commande. Cette sphère appuie à l'extrémité de deux lames métalliques reliées au porte-outil. Le mouvement vertical est indépendant et s'effectue au moyen d'une vis micrométrique.

La précision de ce manipulateur est très satisfaisante, mais il présente deux défauts importants : 1 - il sépare les commandes verticales et horizontales ; 2 - il se place à côté du microscope et le bras de levier formé par le porte-outil et l'outil lui-même est considérable. Cet appareil est donc extrêmement sensible aux vibrations provenant du milieu extérieur.

Le manipulateur de FONBRUNE (II - 37 à 42) est conçu selon un principe très différent. Trois capsules métalliques élastiques sont disposées selon les trois dimensions de l'espace. Ces capsules supportent à l'aide de leviers le porte -

outils. Grâce à un système de seringues une pression est établie dans les capsules et assure ainsi des déplacements très fins du porte-outil. La commande est unique, constituée par un levier dont les déplacements horizontaux assurent les déplacements horizontaux de l'outil, le mouvement vertical s'effectuant par un mouvement de vis du levier sur son axe. Les mouvements grossiers sont commandés par des vis micrométriques.

Plus pratique que le précédent, le micromanipulateur de FONBRUNE est encore un instrument encombrant ; il est, lui aussi, placé à côté du microscope et est aussi sensible aux vibrations.

L'appareil d'ELLIS (II - 34), si ses mouvements grossiers sont toujours micrométriques, voit ses mouvements fins assurés par la piézoélectricité. Les céramiques sont placées de façon à assurer au porte-outils des mouvements dans les trois directions de l'espace. Cet appareil comporte plusieurs particularités : 1 - il porte simultanément trois têtes de micromanipulation qui peuvent, comme dans le micromanipulateur de FONBRUNE être dirigées à l'aide d'un levier ; 2 - mais aux mouvements lents de l'outil ainsi obtenus peuvent être associés des mouvements brusques : soit une percussion unique, soit des vibrations continues. Cela permet semble-t-il de perforer la membrane cellulaire en causant moins de dommage.

Comme les autres, pourtant, ce manipulateur est situé à côté du microscope ; il est donc soumis aux mêmes inconvénients que les deux précédents.

B - Les micro-injecteurs

A côté des instruments que nous venons de décrire et dont l'objet est de miniaturiser les mouvements de la main, il nous faut nous arrêter un instant sur les dispositifs qui permettent d'aspirer le cytoplasme d'une cellule ou de lui injecter des substances variées. Trois types d'appareils ont été conçus pour aboutir à cette fin :

1 - Les micro-injecteurs à dilatation : ils fonctionnent selon le principe des thermomètres. Le premier exemplaire fut créé par BARBER (II - 4). Tous ces injecteurs comportent un réservoir de fluide (mercure (II-4), eau (II-45), air (II-45) qui, chauffé se dilate et éjecte par l'extrémité ouverte du système la substance qu'il contient. Il suffit de refroidir l'instrument pour obtenir une aspiration.

L'avantage de ce dispositif est l'extrême puissance des forces de dilatation qui se jouent des résistances apportées par les forces de capillarité et la membrane cellulaire. Malheureusement, ce dispositif, comme l'instrument suivant, sont beaucoup trop sensibles et ne permettent que l'injection de quantités considérables de liquide.

2 - Les injecteurs hydrauliques : La pression est établie dans un système étanche rempli de liquide à l'aide d'une seringue munie ou non d'une vis micrométrique. Nous avons vu le principal défaut de cet appareil.

KOPAC (II-64) a essayé d'y remédier grâce à une enceinte étanche dans laquelle pénètrent deux pistons, l'un de fort diamètre, l'autre de diamètre réduit. Dans cette presse hydraulique miniature, il y aura évidemment réduction du mouvement du gros piston par rapport au plus petit. Les mouvements deviennent de ce fait moins importants et les quantités injectées on pu être diminuées jusqu'à une valeur de 500 microns cube.

3 - Les injecteurs pneumatiques : De même que dans le cas précédent il s'agit d'une enceinte étanche, mais, cette fois le fluide par lequel la pression est transmise est de l'air. Du fait de la compressibilité des gaz ce système comporte une certaine inertie et fonctionne de façon plus souple. Mis au point par DE FONBRUNE, il a été complété par cet auteur en lui ajoutant un dispositif qui joue à la fois un rôle de frein et de ressort antagoniste, permettant un mouvement d'injection très précis : une petite colonne de mercure est introduite près

de l'extrémité de la pipette, du fait de la forte tension superficielle du métal; il aura de plus en plus de peine à pénétrer dans l'extrémité fine de la pipette au fur et à mesure qu'elle se rétrécit.

Ayant passé en revue les principaux types d'appareils qui permettent de manipuler les cellules ou de leur injecter des substances diverses, il faut à présent que nous examinions les outils qui vont nous servir pour opérer ces cellules et par quelles méthodes il est possible de les obtenir.

C - Fabrication des instruments

Les premiers auteurs ont tout naturellement préparé leurs instruments à la main en étirant plusieurs fois dans la flamme du gaz des tubes de verre de dimensions et de consistances variées. Cette fabrication demande une grande habileté manuelle pour obtenir des outils à peu près normalisés. Pourtant, les microchirurgiens ont attendu fort longtemps avant d'entreprendre la réalisation d'une machine pouvant améliorer leur fabrication. De nos jours encore, nombreux sont les chercheurs qui font encore leurs instruments à la main dans un micro-brûleur (KROEGER (II - 66)).

Il existe cependant deux types d'appareils permettant de réaliser mécaniquement des outils : le premier sert uniquement à fabriquer des micro-pipettes, le second a vocation universelle.

1 - Les étireurs de pipettes . De type très variés (II - I, 7, 31, 52, 80, 87) ces appareils fonctionnent tous sur le même principe.

Ils comportent une source de chaleur (en général un filament de platine chauffé électriquement), un système d'étirage constitué soit d'un poids suspendu à l'extrémité du tube capillaire à étirer, soit de ressorts, soit enfin d'un noyau de fer attiré par un solénoïde.

Les pipettes obtenues sont en général du même diamètre pour un même appareil et un même capillaire. Ces pipettes sont, en outre, d'un diamètre beaucoup trop considérable. Exception faite, dans les deux cas, de l'étireur d'Alexander et Nastuk qui permet certaines variations de calibre et fabrique des pipettes dont le diamètre extérieur est inférieur à 0,2 microns.

2 - La Microforge de FONBRUNE (II- 42). Elle permet quant à elle la fabrication de tous les instruments utilisés à l'heure actuelle en microchirurgie. Le travail s'effectue sous le champ d'un microscope à faible grossissement. Un filament chauffant en platine disposé horizontalement peut être déplacé dans les trois directions de l'espace. Le capillaire à travailler est monté sur un étau qui a la possibilité de se mouvoir dans toutes les directions d'un plan et d'effectuer divers mouvements de rotation. Il serait trop long de décrire toutes les techniques de travail du verre que cet appareil autorise : étirage, coudage, forgeage, soufflage..... Nous nous contenterons d'indiquer les outils qu'il permet de fabriquer.

D - Différents outils utilisables en microchirurgie

Ils sont très peu nombreux à pouvoir être employés sous le microscope à fort grossissement ; nous nous contenterons de signaler l'existence des micro-pincettes de PETERFI et de ses spatules que leur imprécision rendent inaptes aux travaux de physiologie cellulaire.

Des microscalpels peuvent être réalisés selon plusieurs techniques (FONBRUNE (II - 45), mais ils sont malheureusement d'un volume trop considérable et d'une manipulation hasardeuse. Ils ne peuvent être utilisés que sur les gros protozoaires et le plus souvent la micro-aiguille leur est préférée comme instrument tranchant.

La microforge permet aussi d'obtenir des outils de contention. D'une façon générale, ils n'ont, eux aussi, qu'une précision relative et l'on ne peut s'en servir en microchirurgie que pour les cellules d'un volume important : il s'agit de crochets, spatules et anses. Ces dernières sont le plus souvent employées en micromanipulation pour l'isolement des germes bactériens.

En fait, seuls deux outils sont à peu près adaptés à l'expérimentation cellulaire : les micropipettes et les micro-aiguilles. Les premières, si elles sont de fort calibre, peuvent être utilisées comme instruments de contention d'une cellule, même de petite taille. Plus petites, elles servent à l'injection de diverses substances ou à l'aspiration du contenu cellulaire. Leur diamètre intérieur peut être réduit d'une façon courante à 1 micron ; au-dessous de cette taille, si le diamètre est encore réduit, l'aspiration ou l'injection à travers un canal aussi étroit devient très aléatoire.

Les micro-aiguilles sont les instruments les plus précis dont nous disposons. La finesse de leur pointe atteint et dépasse 0,1 micron ; elles peuvent même devenir invisibles sous le microscope optique, malgré les phénomènes de diffraction lumineuse.

Deux outils très particuliers doivent encore être signalés. Ils ont des usages très spéciaux, ce sont les micro-électrodes et les micro-aimants. Plus que l'instruments de chirurgie, il s'agit d'appareils de mesure ou de stimulation. Leur taille atteint celle des micropipettes.

Après avoir ainsi brièvement parlé des problèmes posés par la manipulation des cellules, il nous faut aborder ceux que pose le maintien en vie d'une cellule sous le microscope pendant le temps nécessaire à l'intervention et à l'observation qui la suit.

E - La chambre d'opération

Divers modèles de chambres humides ont d'abord été mis au point en vue d'opérer les organismes unicellulaires en gouttes pendantes. Si l'utilisation d'une telle chambre remonte à RANVIER (traité d'histologie, 1889), son adaptation définitive à la microchirurgie est due à BARBER (II- 4).

Il s'agit simplement d'une lamelle posée sur deux cales de verre, elles-mêmes collées sur une lame. L'atmosphère est maintenue humide grâce à des morceaux de papier filtre ou de coton imbibés d'eau. Une goutte de suspension cellulaire est déposée sous la lamelle.

Divers auteurs ont apportés quelques modifications de détail à ce dispositif sans cependant en changer le principe. De nos jours, quelques chercheurs se servent encore de ce modèle de chambre humide.

Une modification très importante de la chambre a été apportée par TCHAKOTINE (II - 86) et de FONBRUNE (II - 28). L'idée du premier de ces auteurs a été de recouvrir d'huile neutre les gouttes de suspension cellulaire pour en ralentir l'évaporation. De FONBRUNE a complété l'étude des propriétés de l'huile de paraffine et conçu la désormais classique chambre à huile dont l'usage (à quelques différences près) est presque universellement répandu.

Rappelons succinctement les principaux avantages de cette chambre :

- L'évaporation du milieu dans lequel se trouvent les cellules est extrêmement ralentie.
- Les échanges gazeux s'effectuent sans difficulté à travers l'huile.
- L'emprisonnement des cellules dans une goutte de milieu très petite suffit à les immobiliser.

- La faible épaisseur de cette goutte comprime les cellules contre la lamelle supérieure et permet ainsi d'observer de nombreux détails morphologiques.

Il faut signaler qu'un heureux aménagement de cette chambre a été apporté par KOPAC (II- 6I) puis par PRENANT (II - 74) qui remplacèrent l'huile de paraffine par un silicone évitant ainsi la formation de membranes parasites entre l'huile et les solutions de protéines.

Un troisième type de chambre est actuellement utilisé. Il s'agit de chambres examinées sur un microscope inversé et ne comportant de ce fait pas de lamelle supérieure. GOLDSTEIN (II - 5I) a légèrement encoché une chambre de Rose, il dépose les cellules et leur milieu de culture sur la lamelle inférieure. Pour éviter l'évaporation, il suffit de recouvrir l'ensemble d'une couche d'huile de paraffine, ou, mieux, de silicone. Cette chambre est spécialement utile dans le cas où l'expérimentation porte sur des cellules en culture qui ont besoin d'une assez grande quantité de milieu pour survivre.

Il nous reste maintenant à étudier un dernier point dans la technique microchirurgicale. Le choix des cellules qui se prêtent le mieux à l'expérimentation.

F - Matériel cellulaire et milieux de culture ou d'opération

Jusqu'à présent, divers matériels ont servi, soit pour des expériences de mérotomie, soit pour des expériences plus fines de physiologie cellulaire.

Trois types cellulaires ont été utilisés, dont deux sont extrêmement particuliers.

1 - Tout d'abord les protozoaires. Leur grande taille, leurs remarquables qualités de résistance et la facilité avec laquelle on les cultive, en font un matériel de choix.

Un grand nombre d'espèces a été soumis aux instruments des micro-chirurgiens. En tout premier lieu, il faut citer les différents types d'amibes. C'est sur ces protozoaires que les principaux résultats expérimentaux ont été acquis, c'est encore sur ce matériel, bien particulier pourtant, que travaillent la plupart des chercheurs actuels.

Les ciliés ont fourni une autre catégorie d'animaux d'expérience. Stentor, Euplotes et Paramécies représentent les plus importants d'entre eux.

Tous ont des milieux de cultures extrêmement simples : solution saline dans laquelle sont placés les micro-organismes dont se nourrissent les protozoaires.

Pour certaines amibes (COMANDON et de FONBRUNE) la culture est encore simplifiée, les amibes sont disposées, ainsi que les germes dont elles se nourrissent sur une couche de gélose.

Malheureusement, si ces organismes donnent de grandes facilités à l'observateur, ils sont loin d'avoir la physiologie des cellules de métazoaire.

2 - Un deuxième matériel a donc été retenu, conservant une grande taille, se rapprochant davantage des cellules des organismes supérieurs, mais déjà plus fragiles. Il s'agit des oeufs. Ceux qui ont le plus souvent été soumis à l'expérience sont les oeufs d'Echinodermes (oursin, étoile de mer surtout) et les oeufs d'amphibiens (II - 6). leur milieu de survie est simple, leur évolution normale est bien connue, leur taille suffisamment importante sans être prohibitive. De rares expériences ont été faites sur les oeufs de mammifères (FONBRUNE (II - 70)), mais leurs résultats sont beaucoup plus difficilement interprétables et leur manipulation très malaisée.

3 - Quoiqu'il en soit, les oeufs représentent encore des cellules tout à fait spéciales. Il a donc fallu s'intéresser directement aux cellules normales de métazoaires en culture. Le premier à avoir étudié de près ce matériel fut CHAMBERS (IV - IO) qui mit immédiatement en évidence l'extrême fragilité de ces cellules rendant pratiquement impossible à son époque tout travail physiologique.

Depuis, certains auteurs ont pu réussir quelques types particuliers d'expériences sur des cellules, elles aussi bien particulières. C'est le cas de KOPAC (III - 5I) travaillant sur des cellules de l'adénome de Lucké du rein de grenouille.

C'est le cas également de NICKLAS et STAHEL (VI - I7 - I8) sur les spermatocytes de sauterelle en méiose.

Quant aux cellules de mammifères, si quantité de souches ou de cultures primaires ont été étudiées par CHAMBERS, puis par GOLDSTEIN (II - 5I) et d'autres auteurs, les expériences n'ont guère dépassé, pour la plupart le stade de la mérotomie.

Il faut signaler cependant que MUNRO (II - 7I) a tenté d'améliorer les possibilités de la microchirurgie en augmentant, grâce à une irradiation X la taille de cellules Hela. Cela leur permet, certes, des opérations simplifiées (ils se sont cependant contentés de la mérotomie), mais les cellules géantes ainsi obtenues ont un métabolisme certainement perturbé, et, de toutes façons, ne se mitosent plus.

G - Quelques méthodes particulières pouvant être adaptées à la microchirurgie.

En dehors des méthodes classiques de microchirurgie que nous venons d'envisager très rapidement, il existe d'autres méthodes que certains auteurs

ont proposées pour intervenir sur la cellule ou qui pourraient être utilisées dans ce but. Il serait trop long de décrire ici toutes ces méthodes, classiques dans d'autres domaines, nous nous contenterons donc de les énumérer. Il s'agit en tout premier lieu de la micro-irradiation : qu'elle soit ultra-violette comme l'a proposé TCHAKOTINE dès 1932 (II- 86), qu'elle s'adresse à des radiations ionisantes diverses ou au LASER, son but est identique : détruire au moyen d'un faisceau de radiations tel ou tel type d'organite cellulaire et pouvoir ainsi étudier son rôle dans le métabolisme.

Très différentes, de par leur objet, sont les méthodes se proposant de faire pénétrer à l'intérieur de la cellule différents corps chimiques, sans qu'il y ait nécessité de les injecter. Citons le cas de la micro-électrophorèse utilisée par KOHEN LEGALLAIS et KOHEN (II- 58).

Tout autre également est l'hybridation cellulaire étudiée par BARSKI et BELEHRADEK (IX (1) et réalisée expérimentalement par HARRIS (IX - 3), qui permet la fusion de cellules tout à fait différentes, grâce à l'intervention de certains virus.

Dans ces trois cas, pris à titre d'exemple, il s'agit bien de méthodes à visées micro-chirurgicales : intervention sur la cellule permettant d'étudier l'effet sur celle-ci d'amputations, d'injections ou de greffes.

Nous remettrons à plus tard un jugement critique sur ces méthodes mais il fallait les signaler dès à présent pour bien saisir l'importance capitale que peuvent avoir des modifications techniques sur l'avenir d'un moyen d'exploration cellulaire.

Après avoir rapidement passé en revue les différents procédés auxquels la microchirurgie a recours, il nous faut aborder les résultats qu'ils ont permis d'obtenir. Les premières étapes que la microchirurgie ait franchies concernant les propriétés physico-chimiques de la cellule.

3 - Les propriétés physico-chimiques de la cellule

Les premiers auteurs qui ont abordé la cellule par voie micro-chirurgicale ont commencé par prendre connaissance des cellules en étudiant leur consistance et leurs réactions à la pique.

A - Appréciation de la consistance et réactions à la pique

Il faut avant tout citer les travaux de CHAMBERS et collaborateurs (IV - I à I5) à qui nous devons presque toutes nos connaissances sur ce chapitre. Il perçoit les transformations sol-gel du protoplasme et analyse la consistance d'un nombre impressionnant de cellules : oeufs, cellules en cultures, cellules normales et cellules cancéreuses, en interphase et en mitose.

En fin de compte, les consistances différentes qu'il espérait trouver selon les différentes cellules sont bien plus minimes que celles qu'il trouve au sein d'une même cellule soumise à des conditions différentes. Les résultats des études sur ce point ont été résumées par SEIFRIZ (I - 37).

Plus instructives sont les réactions de la cellule à la pique par une micro-aiguille. Si les protozoaires supportent fort bien une telle agression, si les oeufs d'échinodermes ne sont pas, eux non plus, très fragiles, il n'en est pas de même des cellules en culture. CHAMBERS et FELL, en 1931 (IV - 10), constatent qu'une pique un peu brutale du cytoplasme de la cellule suffit à la tuer. Avec KOPAC et GRAND, CHAMBERS (IV - 12) insiste sur l'importance d'opérer extrêmement lentement avec le micromanipulateur si l'on veut que la cellule survive.

Il faut encore noter un point particulier à l'amibe : ce protozoaire a la propriété de fuir l'instrument qui l'opère, comme s'il percevait le sens et la direction du traumatisme qu'il subit.

Après ces observations qui découlaient immédiatement de la manipulation des cellules, les microchirurgiens ont tenté d'explorer la composition interne de celles-ci.

B - Appréciation du pH et des Oxydoréducteurs intracellulaires

Là encore, il faut principalement citer les travaux de CHAMBERS (IV-12) mais aussi ceux de PETERFI et NAVILLE (V-14) de WURMSER et RAPKINE (IV-32). et de ZOBEL (IV-33). C'est par l'injection de réactifs colorés appropriés en solutions extrêmement concentrées, ou même par l'introduction d'un cristal de colorant dans la cellule que ces divers auteurs ont pu obtenir quelques résultats. Le pH intracytoplasmique mesuré par CHAMBERS, KOPAC et GRAND est de $7 \pm 0,2$ et le pH nucléaire de $7,7 \pm 0,1$. La présence d'accepteurs d'hydrogène dans la cellule et aussi dans le noyau était déjà connue dès 1931.

Malgré tout, ces connaissances demeurent assez sommaires car les métabolismes cellulaires sont encore mal connus à cette époque. De même un certain nombre de colorants. Le nombre limité de ceux-ci et aussi les modifications entraînées au sein de la cellule par l'injection de solutions concentrées n'a pas permis d'aller plus loin dans cette voie. Par contre, de nombreuses connaissances ont été recueillies sur les propriétés de la membrane cellulaire.

C - Propriétés de la membrane

Si son existence est immédiatement démontrée pour celui qui la manipule en l'étirant, la repoussant ou en la vidant de son contenu (IV-12) il n'en est pas de même en ce qui concerne sa consistance et, surtout, sa composition. Ce sont CHAMBERS et HOFER (IV - 7, 11) qui montrent la présence à la surface des cellules d'une couche protéique dont l'importance dans les relations intercellulaires sera démontrée plus tard. Par ailleurs, en travaillant sur des tonoplastes, ils arrivent à dissoudre la membrane dans du chloroforme et à la reconstituer : l'injection de corps gras (paraffine ou huile d'olive) dans un tonoplaste en milieu protéique permet de faire croître son volume par augmentation de taille de la membrane grâce à une synthèse expérimentale de celle-ci en

mettant en présence un corps gras et des protéines. KCPAC (IV- 21, 22) étudiera par la suite plus en détail l'action des corps gras sur le cytoplasme et les membranes qui se forment à l'interface.

Enfin des notions importantes sur la perméabilité cellulaire ont été acquises grâce à la microchirurgie : CHAMBERS, KCPAC et GRAND (IV -12) en plaçant à l'extérieur, puis à l'intérieur d'oeufs d'échinodermes ou d'amibes des corps tels que NaHCO_3 ou NH_4Cl constatent que les réactions d'absorption ou d'excrétion de la cellule sont inverses l'une de l'autre selon que le produit est interne ou externe.

De même CHAMBERS et REZNIKOFF (IV - 15) étudient l'action de divers ions (Na^+ , K^+ , Ca^{++} , Mg^{++} , Cl^-) sur le cytoplasme selon que ses ions sont injectés à la cellule ou placés en dehors d'elle. La gélification instantanée du cytoplasme sous l'action du CaCl_2 , l'antagonisme des cations mono- et divalents a parfaitement été mis en évidence. Une réaction nouvelle de la cellule aux concentrations ioniques élevées a été observée : l'injection d'une petite quantité de solution ionique concentrée en un point de la cellule provoque l'isolement puis le rejet par la cellule de la partie de son cytoplasme ainsi lésée.

Au cours de toutes ces expériences sont apparues d'autres notions concernant la cicatrisation de la membrane cellulaire après diverses interventions :

D - Cicatrisation de la membrane cellulaire

Nous avons déjà vu le rôle que pouvait jouer sur cette cicatrisation la présence de corps gras et de solution de protéines. Les cations ont aussi une grande influence sur les propriétés de la membrane. Ainsi des solutions de Na^+ ou de K^+ rendent la membrane moins résistante aux pressions et extrêmement

fragile : le moindre attouchement fait éclater la cellule. Par contre, les solutions de Mg^{++} et surtout de Ca^{++} renforcent la résistance et la faculté de cicatrisation des membranes cellulaires (IV - 12, 15).

La cohésion des membranes est de telle sorte qu'une piqure, même traumatisante, est suivie de cicatrisation si l'outil est retiré lentement, permettant au cytoplasme de réformer une nouvelle membrane au fur et à mesure. A l'opposé, une simple vibration de la micro-aiguille suffit à désintégrer la totalité d'une membrane isolée (IV - 11).

Au total les propriétés de cicatrisation sont importantes puisque l'on peut sectionner de volumineux morceaux de cytoplasme (IV - 10, 17, 26) et obtenir une cicatrisation immédiate de la plaie dans de nombreux cas.

Au contraire de cette résistance parfois impressionnante des membranes cellulaires, un élément très important pour la microchirurgie a été mis en évidence dès les premiers travaux.

E - La fragilité du noyau des cellules de métazoaires

Il est remarquable que tous les auteurs qui ont eu l'occasion de manipuler des cellules de métazoaires (IV - 11, 13, 26) insistent sur ce fait découvert en 1931 par CHAMBERS et FELL (IV - 10) : le simple contact du noyau et d'un instrument provoque instantanément une pycnose et une mort cellulaire. Cette fragilité constitue l'une des principales difficultés de l'expérimentation microchirurgicale. Nous ne saurions trop insister sur ce fait.

Avant de quitter ce chapitre des propriétés physico-chimiques de la cellule, il faut encore noter pour mémoire, une expérience assez singulière que nous devons à CHAMBERS, KCPAC et GRAND (IV - 12). Ces auteurs ont

provoqué la congélation instantanée d'une cellule (A. Proteus) par l'introduction, à l'aide d'une microaiguille, d'un cristal de glace dans l'amibe, celle-ci étant en état de surfusion. Il y a là une méthode de conservation par congélation tout à fait particulière à la technique microchirurgicale.

A la suite de ces premiers travaux d'approche de la cellule, les études plus précises des fonctions cellulaires pouvaient être entreprises : c'est celles-ci que nous allons maintenant aborder.

4 - Les relations nucléocytoplasmiques

A - Les méthodes d'étude

Il en existe cinq types qui permettent d'entreprendre un examen des relations entre le noyau et le cytoplasme.

1 - L'énucléation est la plus simple : pratiquée déjà par BARBER (III - 1), puis par COMANDON et FONBRUNE (III - 16) et DANIELLI (III - 24) elle permet d'étudier le devenir d'un cytoplasme dépourvu de noyau.

2 - Plus précise est déjà la mérotomie où la section d'une cellule en deux fragments, l'un nucléé et l'autre sans noyau permet une meilleure comparaison entre un cytoplasme contenant un noyau et un cytoplasme qui en est dépourvu, tous deux appartenant à la même cellule. Inaugurée par VERWORN en 1891 cette méthode a surtout été utilisée par BRACHET (III - 2) sur les amibes puis par GOLDSTEIN et collaborateurs (III - 36, 37) et enfin par MUNRO et DANIEL (IV - 26) sur les cellules de mammifères en culture.

3 - Il est parfois possible avec certaines cellules comme l'amibe (DANIELS (III - 32) ou le stentor (TARTAR III- 69), de fusionner entre elles deux cellules

ayant des propriétés différentes. Malheureusement, il est, dans ce cas, très difficile d'apprécier le rôle respectif du noyau et du cytoplasme.

4 - C'est surtout depuis que la technique de greffe nucléaire a été mise au point par COMANDON et FONBRUNE (III - 17) chez l'amibe que l'on peut étudier avec précision les relations nucléo-cytoplasmiques.

DANIELLI (III - 24) en réussissant des hétérogreffes nucléaires a apporté une amélioration considérable à cette méthode car il est possible de distinguer dans ce cas les propriétés dont est responsable chaque noyau et chaque cytoplasme.

Il existe une autre méthode de greffe inventée par BRIGGS et KING (III - 7) mais elle est surtout destinée à l'étude du développement de l'oeuf ; nous la reverrons par la suite.

5 - Complémentaire de la greffe est l'injection de cytoplasme, réalisée d'abord par HAWKINS, COLE et DANIELLI (III - 40) elle permet aisément de savoir les modifications qu'apporte dans une cellule la présence d'un cytoplasme étranger.

Il nous reste à voir à quels résultats ont conduit ces divers types d'explorations.

B - Conséquences de l'absence du noyau

1 - Il faut d'abord rappeler les premières expériences de TAYLOR et FARBER sur les euplotes (III - 70). En aspirant à l'aide de la micropipette de BARBER le micro-nucleus de nombreux Euplotes ils montrent la nécessité de celui-ci pour la vie de la cellule puisqu'aucun Euplote ne survit plus de 5 jours sans micronucleus. Cependant, ces protozoaires peuvent se diviser au maximum deux fois ; le micro-nucleus n'est donc pas immédiatement nécessaire à la reproduction. La présence

indispensable du micronucleus est confirmée par des expériences de mérotomie, enlevant une grande partie du cytoplasme et du macronucleus. Les ciliés ainsi mutilés se reproduisent normalement. Il en est de même pour les Euplotes à qui on a enlevé puis remis leur micronucleus. La conclusion que tirent les auteurs de cette expérience est la suivante : le micronucleus joue un rôle germinal et métabolique comparable à celui du noyau des eucaryotes. Il s'agit là d'une expérimentation particulièrement précise de physiologie cellulaire d'une portée générale, même si nous avons aujourd'hui d'autres idées sur le rôle du micronucleus et du noyau des eucaryotes.

2 - En s'adressant à un autre matériel expérimental, l'amibe, COMANDON et FONBRUNE (III - 16) et DANIELLI (III - 24) vont aboutir à un autre type de conclusions. Si l'on retire le noyau d'une amibe le fragment de cytoplasme anucléé peut survivre pendant une période très prolongée (vingt jours), mais certaines des fonctions métaboliques sont profondément altérées puisque l'amibe se met en boule, et voit ses mouvements devenir anarchiques, puis se ralentir, la vacuole pulsatile cesse de fonctionner et le fragment finit par mourir.

Si différentes déjà des réactions des ciliés, celles de l'amibe le sont au moins autant des réactions des cellules métazoaires.

3 - Depuis CHAMBERS et FELL, nous savons en effet que le simple contact entre un noyau et un micro-instrument induit non seulement la pycnose du noyau, mais encore la mort cellulaire en quelques minutes.

Cependant, les expériences de mérotomie pratiquées par CROCKER GOLDSTEIN et CAILLEAU (VII-5) puis par MUNRO et DANIEL (IV- 26) ne conduisent pas au même résultat puisque des fragments de cytoplasme de cellule HeLa obtenus par mérotomie ont survécu jusqu'à 54 heures sans la présence de noyau. Il est certain, malgré tout, que la cellule de mammifère est bien plus sensible à la privation de son noyau que ne l'est un protozoaire.

4 - En dehors de ces observations purement morphologiques, certains auteurs ont cherché à explorer plus loin les conséquences de l'absence de noyau dans une cellule. Bien que ces expériences sortent du cadre que nous nous sommes tracé pour ce travail, puisqu'il s'agit de cellules végétales, il est impossible de ne pas faire mention des travaux d'HAMERLING (XI - 11) puis de ses très nombreux continuateurs, qui ont étudié avec un soin extrême les relations nucléocytoplasmiques chez plusieurs sortes d'acétabulaires par des techniques particulières de mérotomie et de greffes.

Chez les animaux, BRACHET (III - 2, 4) après énucléation d'*Amoeba Proteus*, a examiné le devenir des différents métabolismes dans les fragments nucléés et anucléés par des techniques de cytochimie et des dosages biochimiques. Ses conclusions sont les suivantes : Le DNA des fragments nucléés (laissés à jeun) reste stable ; il diminue rapidement dans les fragments anucléés qui ne contiennent que le DNA des bactéries dont l'amibe s'est nourrie. Le RNA diminue progressivement dans les fragments anucléés alors qu'il reste stable dans les autres. Le glycogène normal pendant 2 jours diminue ensuite rapidement dans les fragments nucléés. Il en est de même pour les graisses. Le taux de la Thyrosine est peu affecté par le jeûne dans les fragments nucléés ; par contre, il diminue de 50 % dans les fragments anucléés entre le 3e et le 9e jour.

La consommation d'oxygène reste parfaitement stable dans les deux types de fragments.

Parmi les enzymes certains sont stables dans les deux types de fragments. ATPase, Enolase, amylase et protéases ; par contre phosphatase acide et estérases augmentent considérablement dans les fragments nucléés et diminuent dans les fragments anucléés.

En dehors des expériences de BRACHET, d'autres auteurs ont étudié divers métabolismes après mérotomie, notamment BYERS et collaborateurs

(III - 12 , 13) et RABINOVITCH et PLAUT (III - 64, 65). Mais leurs expériences comportent en outre des greffes et des hétérogreffes. Nous examinerons donc l'ensemble de leurs travaux un peu plus loin .

C - Les relations nucléo-cytoplasmiques

De nombreux groupes de recherche ont étudié ces problèmes sans qu'il existe encore une unité fondamentale entre leurs différents résultats. Nous les exposerons donc séparément en tenant compte des buts extrêmement variés poursuivis par ces divers auteurs.

1 - Les expériences de COMANDON et FONBRUNE (III - 16 à 23).

a - Etant les inventeurs de la technique de greffe chez l'amibe, ces auteurs ont été les premiers à observer le phénomène de réactivation : si dans une amibe énucléée qui a déjà perdu ses mouvements on introduit un noyau, cette amibe va reprendre une vie tout à fait normale et se reproduire. Il est ainsi démontré que les troubles qui étaient observés après énucléation sont bien dus à l'absence de noyau. Ce n'est que très tardivement que des lésions secondaires vont venir rendre irréversible l'évolution du fragment d'amibe vers la mort, même après greffe d'un noyau .

b - Outre cette réimplantation de noyau dans un cytoplasme énucléé COMANDON et FONBRUNE ont également greffé un ou plusieurs noyaux dans une amibe entière. L'amibe vit normalement, simplement sa mitose est retardée et atypique (l'étude de ces mitoses reste à faire).

c - Bien plus instructives encore sont les expériences réalisées par ces auteurs grâce à la colchicine :

Voulant étudier l'action de ce produit sur l'*Amoeba Sphoeronucleus*, ils ont d'abord plongé la cellule dans une solution de 1/1500 puis à 1% sans aucun résultat. Devant cet échec, ils ont pensé injecter la colchicine directement dans l'amibe. Si celle-ci est en interphase, il ne se passe rien d'anormal; si elle est en début de prophase, le noyau se reconstitue et la cellule réagit comme en interphase. Par contre, si l'amibe est en fin de prophase, il y aura une stathmocinèse sans division nucléaire aboutissant à une amibe diploïde. Cette diploïdie va persister indéfiniment de façon héréditaire chez ces amibes remises en culture dans leur milieu ordinaire. En recommençant l'opération, il est possible d'obtenir ainsi des amibes tétraploïdes, ou octoploïdes. Mais ces deux types, surtout le dernier, ne peuvent pratiquement pas être cultivés. A partir de cette amibe diploïde, appelée 2 V par ses auteurs, et de l'amibe normale V, il a été possible d'étudier : 1 - le retentissement de la diploïdie, 2 - d'effectuer des greffes croisées.

Le seul caractère dû à la diploïdie qui ait été noté est l'augmentation de volume de la cellule et de son noyau : le volume d'un noyau 2V est égal au double du noyau V ; il en est de même pour le volume cellulaire total.

- Les greffes ont d'abord été effectuées dans des cellules entières. si un noyau de la variété 2V est introduit dans une amibe V, le noyau V augmente de volume jusqu'à atteindre la taille du noyau 2V ; il perd ce faisant de sa réfringence. Ce n'est qu'après avoir atteint cette taille que les deux noyaux se divisent simultanément. Les amibes issues de cette division finissent par regagner leur variétés originelle, 2V ou V.

Une greffe d'un noyau V dans une amibe 2V ne provoque pas de modification dans la taille du noyau ou du cytoplasme. La division des deux noyaux est simultanée. Au cours des générations suivantes les amibes redeviennent mononucléées, du fait de la division cytoplasmique et regagnent leur variété d'origine V ou 2V.

- En dehors de ces greffes de noyaux de variétés différentes dans des cellules entières, COMANDON et FONBRUNE ont pratiqué des greffes de noyau dans le cytoplasme de la variété opposée.

La greffe d'un noyau 2V dans un cytoplasme V conduit aux observations suivantes : le noyau conserve les dimensions de sa variété 2V, mais le cytoplasme V va s'accroître au cours des générations pour atteindre la taille d'un cytoplasme 2V. Inversement, la greffe d'un noyau V dans un cytoplasme de la variété 2V conduit à une augmentation de volume du noyau greffé avec perte de réfringence jusqu'à atteindre la taille d'un noyau 2V. La cellule se mitose ensuite et, au cours des générations suivantes, les cellules filles regagneront les dimensions nucléaires et cytoplasmiques de la variété V du noyau greffé.

De l'ensemble de ces expériences ressort la profonde influence qu'exerce le cytoplasme sur la taille du noyau et l'influence plus profonde du noyau sur le volume cytoplasmique.

d - Pour compléter l'étude de cette influence COMANDON et FONBRUNE ont greffé des noyaux immédiatement post-mitotiques (qu'ils appellent "noyaux jeunes") dans des cytoplasmes de cellules en prophase (cytoplasme âgé) et inversement des noyaux âgés dans des cytoplasmes jeunes. Dans le premier cas le noyau fait sa croissance normale mais le cytoplasme recommence à croître jusqu'à atteindre les dimensions de la variété 2V. Ce cytoplasme regagnera des dimensions normales au bout de quelques générations.

Dans le cas inverse, le noyau âgé (en prophase) se reconstitue et va croître en volume jusqu'à atteindre la taille 2V tandis que le cytoplasme croît normalement.

En conclusion, la mitose n'exige pas un rapport nucléocytoplasmique constant, mais elle ne peut se produire que si noyau et cytoplasme ont atteint un état physiologique particulier. L'interaction nucléocytoplasmique sur la taille de l'un des deux composants de la cellule est confirmée par cette expérience.

2 - Les expériences de DANIELLI et collaborateurs (III - 15, 24 à 31, 39 à 42, 54 à 57)

C'est dans l'intention bien déterminée d'étudier l'influence du cytoplasme dans l'hérédité de la cellule que DANIELLI s'est tourné vers la microchirurgie et la technique des greffes nucléaires. Ses expériences, quoique tout à fait indépendantes, font en quelque sorte suite à celles de COMANDON et FCNBRUNE.

a - L'idée initiale de DANIELLI et de ses collaborateurs est d'étudier l'influence au cours de plusieurs générations du cytoplasme d'une espèce d'amibe sur le noyau d'une autre espèce. Il fallait encore trouver deux amibes qui, quoique présentant des différences suffisamment importantes, veuillent bien accepter le noyau de l'autre espèce. Ce n'est pas le moindre mérite de DANIELLI et de ses collaborateurs que d'avoir utilisé *Amoeba Proteus* et *Amoeba Discoïdes*. Dès 1950, plus de 120 greffes étaient réalisées et l'une des cellules ainsi greffées : (un noyau de *Proteus* dans un cytoplasme de *Discoïdes*), donna naissance à un clône viable. C'est d'abord sur ce clône que les observations ont été effectuées, puis sur d'autres, et enfin sur des clônes obtenus par des greffes croisées entre l'une des lignées parentales et un des clônes intermédiaires déjà obtenus.

Il fallait aussi définir les caractères qui différencient les deux types de cellules. De nombreux critères ont pu être trouvés et des résultats tout à fait significatifs obtenus.

Pour déterminer si un de ces caractères appartient au noyau, au cytoplasme ou à ces deux éléments, l'expérimentation est simple : le caractère étudié est examiné dans *Amoeba Proteus* et dans *Amoeba Discoïdes* ; une greffe de noyau de *Proteus* dans un cytoplasme énucléé de *Discoïdes* est pratiquée. Si la cellule intermédiaire possède le même type que la *Proteus*, c'est que le noyau seul intervient ; si c'est le même type que la *Discoïdes*, seul le cytoplasme est en cause ; si le type est intermédiaire entre les deux espèces, noyau et cytoplasme influencent tous deux le caractère étudié.

b - Aucun des caractères de la cellule n'a, jusqu'à présent, été reconnu comme étant sous la dépendance du seul cytoplasme, excepté peut-être la fréquence des mitoses aux basses températures. Par contre, le noyau détermine un certain nombre de caractères à lui seul. Tels sont : la nature des antigènes de surface, la capacité de résistance aux anticorps, la répartition des différents acides aminés dans la cellule, la fréquence des mitoses aux températures élevées. Des facteurs plus nombreux encore sont sous la double dépendance du noyau et du cytoplasme.

La résistance des cellules à la streptomycine, leur durée de vie, la taille des noyaux et la répartition statistique de cette taille, la forme des cellules en mouvement et leur forme quand elles sont mises en présence d'anti-sérum spécifique d'une des deux espèces d'origine.

Devant l'existence de caractères déterminés en partie par le cytoplasme, il fallait encore savoir s'ils étaient définitivement acquis et se transmettaient de façon héréditaire ou s'il ne s'agissait que d'une influence provisoire s'effaçant au cours des générations. La persistance pendant plus de 2^{10} générations des caractères étudiés était déjà un argument de poids pour affirmer l'existence d'une hérédité cytoplasmique. Mais il y a mieux : des noyaux de cellules intermédiaires (obtenues plusieurs années auparavant par greffe d'un noyau de *protéus* dans un cytoplasme de *Discoïdes*) greffés dans les souches *Proteus*

et Discoïdes agissent dans ces cellules comme des noyaux Discoïdes en ce qui regarde la formation des clones. Le noyau change donc de propriétés après un long séjour en cytoplasme étranger.

c - L'hérédité cytoplasmique était ainsi établie, on pouvait apporter une vérification définitive en suivant les modifications apportées à une cellule par l'injection de cytoplasme provenant d'une amibe de l'autre espèce.

Il a été démontré que les injections de cytoplasme provoquent bien les modifications que l'on était en droit d'attendre d'elles après les expériences de greffes nucléaires.

d - La certitude de cette hérédité cytoplasmique ainsi définitivement reconnue, il reste à savoir quels sont les éléments du cytoplasme qui portent cette hérédité. C'est dans cette voie que s'engagent maintenant DANIELLI et ses collaborateurs. Ils ont déjà pu montrer que ces éléments résistent à une centrifugation à vitesse modérée et à la lyophilisation (III - 42). Il reste encore à les extraire de la région où ils séparent.

De ces expériences d'une grande rigueur scientifique résultent des connaissances extrêmement précises de physiologie cellulaire.

GOLDSTEIN, PLAUT, WOLSTENHOLME et collaborateurs, sur le même matériel cellulaire, vont explorer divers métabolismes, abordant d'un point de vue très différent l'étude des relations nucléo-cytoplasmiques.

3 - Expériences de GOLDSTEIN, PLAUT, WOLSTENHOLME et collaborateurs (III - 12, 13, 36, 63, 65)

a - En 1962, RABINOVITCH et PLAUT (III - 64, 65) cherchent à prouver l'existence d'un acide désoxyribonucléique dans le cytoplasme des amibes utilisent deux techniques pour le mettre en évidence :

La coloration par l'Acridine orange et le marquage par la Thymidine tritiée ; ils montrent qu'il existe des particules de 0,3 à 0,5 micron situées dans le cytoplasme et qui contiennent du DNA.

Ces particules sédimentent près du noyau si l'on centrifuge les cellules. Il s'agit bien de DNA car le désoxyribonuclease fait disparaître les particules observées. Ces particules sont au nombre de 5.400 en moyenne par amibe après la mitose. Mais, avant la mitose, on en compte 11.000 environ ; elles se répliquent donc.

Des expériences de mérotomies sont alors pratiquées qui permettent de constater une augmentation importante du nombre de ces particules dans les fragments dépourvus de noyau.

En 1966, WOLSTENHOLME (III - 72) tente de réaliser une synthèse entre les travaux de DANIELLI et ceux de RABINOVITCH et PLAUT. Employant la même technique que ces derniers il retrouve les particules décrites dans *Amoeba Discoïdes*, mais non dans *Amoeba Proteus*. Il constate comme précédemment que ces particules, quand elles existent, sont sous la dépendance du noyau. Par contre, en tenant compte des expériences de greffes croisées de DANIELLI, il conclut que ce DNA cytoplasmique ne peut être le support de l'hérédité cytoplasmique puisque l'*Amoeba Proteus*, qui ne possède pas de DNA cytoplasmique perceptible possède néanmoins les supports de l'hérédité cytoplasmique.

Si, de ce côté, il est encore trop tôt pour tirer des conclusions ; d'autres expériences, portant sur des phénomènes différents, ont permis de mieux connaître les relations nucléocytoplasmique.

b - PRESCOTT et GOLDSTEIN, en 1967 (III - 63), pratiquent des greffes nucléaires dans des amibes en phase de synthèse de DNA (phase S) et en phase de repos (phase G2). Ils transfèrent ainsi des noyaux d'amibes G2

Ils transfèrent ainsi des noyaux d'amibes G2 dans des cytoplasmes d'amibes en phase S et inversement, ainsi que des expériences témoins (noyau G2 dans cytoplasme G2, noyau S dans cytoplasme S). Ils marquent ensuite les amibes par la thymidine tritiée et peuvent constater que le cytoplasme commande par inhibition ou initiation la synthèse du DNA. En effet, les noyaux sont arrêtés dans leurs activités de synthèse s'ils sont placés dans un cytoplasme en période de repos. La synthèse de DNA est, par contre, provoquée si des noyaux au repos sont placés dans un cytoplasme "en phase S".

c - Simultanément, GOLDSTEIN et PLAUT (III - 38) étudient le maillon suivant de la chaîne de synthèse des protéines : le RNA. Leur but est de déterminer le rôle du noyau et du cytoplasme dans la production et l'utilisation du RNA : pour cela ils marquent les amibes à l'aide de phosphates dont le phosphore est radioactif. Ils admettent, peut-être un peu hâtivement, que le marquage obtenu est accumulé surtout dans le RNA car, disent-ils, l'amibe contient peu de DNA : en effet, ces amibes ne prennent que très faiblement la coloration de Feulgen. Quoi qu'il en soit, ils greffent le noyau qui a pris environ 2 % de marquage total de la cellule dans une amibe non marquée. Ils fixent ensuite les amibes et les examinent après 5 heures, 12 heures et 90 heures. Si, au bout de 5 heures, le marquage est toujours localisé dans le noyau, 12 heures après, il commence à exister un marquage cytoplasmique ; enfin, à 90 heures, tout le marquage est passé dans le cytoplasme. Le deuxième noyau présent dans l'amibe ne se marque pourtant pas. Ces auteurs concluent donc à un passage du RNA du noyau dans le cytoplasme. D'autres expériences, plus précises, faites sur les acétabulaires confirment ce résultat qui est peut-être, considéré isolément, un peu sommaire.

d - La répartition des protéines au sein de la cellule est étudiée par BYERS, PLATT et GOLDSTEIN en 1963 (III - 12, 13) par des techniques

d'autoradiographie. Différents acides aminés sont utilisés, avec des marqueurs différents : sont marqués au tritium : Cytidine, Leucine, Typtophane, Méthyl méthionine et Arginine. Au ^{14}C : Phényl Alanine , Tryptophane et Lysine. Au ^{35}S , la Méthionine.

Le marquage d'amibes à l'aide de ces différents acides aminés et après lavage dans des solutions concentrées de ces mêmes acides conduit à un marquage nucléaire intense : 20 fois plus important que le marquage cytoplasmique.

Les auteurs de ces expériences considèrent qu'ils ont ainsi marqué des protéines nucléo-cytoplasmiques car les acides aminés libres sont éliminés par le lavage. Il reste à déterminer quelles sont les protéines ainsi marquées et quel est leur rôle dans la vie de la cellule.

Des noyaux marqués sont alors greffés dans des amibes non marquées de la même espèce ou d'espèce différente. Dans l'un ou l'autre cas, un phénomène identique se produit : il y a passage du marquage du noyau marqué à l'autre noyau. Les expérimentateurs en concluent que les nucléoprotéines n'ont qu'une faible spécificité d'espèce.

Quoi qu'il en soit, au bout de 6 heures environ, une proportion définitivement stable du marquage est atteinte : le noyau greffé (initialement marqué) conserve 70 % du marquage, le noyau de l'amibe non marquée n'en prend que 30 %. Il est alors logique de conclure que deux nucléo-protéines différentes ont été marquées : l'une, stable, représentant 20 % de la radioactivité, l'autre, libre, se répartissant donc à égalité entre les deux noyaux s'appropriant 60 % du marquage. Cette hypothèse est confirmée par des greffes successives de noyau dans la même amibe : elles montrent que seules les protéines libres passent d'un noyau à l'autre.

Il était tentant de considérer ces nucléoprotéines comme des histones, mais cette hypothèse a été infirmée car ces protéines particulières ne contiennent que fort peu de tryptophane ; or le tryptophane donne exactement les mêmes résultats que le marquage par les autres acides aminés.

Si de telles expériences comportent tous les aléas des techniques d'autoradiographie, il est bien évident que nous sommes là au centre des problèmes de physiologie cellulaire et que, dans ce dernier cas, c'est le recours à la technique de greffe nucléaire qui a permis d'acquérir la notion dynamique qui manquait à la technique d'autoradiographie employée seule.

Quelques auteurs ont essayé de demander davantage encore à la micro-chirurgie : l'étude de la pathologie cellulaire.

4 - Les relations nucléo-cytoplasmiques et la pathologie cellulaire (III- 24, 55, 59 à 62)

Il s'agit là d'étudier l'effet sur la cellule de certains éléments cytotoxiques telles que radiations ou substances chimiques.

Le principe de ces expériences est toujours le même : après avoir soumis des amibes à l'action cytotoxique que l'on désire étudier, il suffit d'étudier séparément les réactions du noyau et du cytoplasme. Les expériences les plus simples consistent à couper la cellule en deux fragments : l'un nucléé, l'autre non (III - 59 à 62). Mais il est possible d'aller plus loin, par exemple de greffer un noyau sain à une cellule soumise à un effet toxique, ou de lui injecter du cytoplasme sain. Inversement, on peut greffer un noyau ou injecter du cytoplasme d'une cellule lésée à une cellule saine. En étudiant la survie des différents clones obtenus, il est possible d'attribuer au noyau ou au cytoplasme l'atteinte qui provoque la mort de la cellule.

C'est ainsi que DANIELLI (III - 24) a pu montrer que l'irradiation X avait essentiellement une action sur le noyau des cellules, tandis qu'une moutarde azotée possédait deux activités cytotoxiques, l'une nucléaire, l'autre cytoplasmique, la deuxième étant la plus grave.

ORD, en 1965 (III - 55) étudie de même les lésions provoquées par le N méthyl N nitrosouréthane. Dans ce cas, si l'atteinte porte également de façon indépendante sur le noyau et le cytoplasme, l'atteinte nucléaire paraît être la plus dangereuse.

Tous les travaux que nous venons de passer très rapidement en revue ont permis d'acquérir, comme nous l'avons vu, de nombreuses précisions sur les relations nucléo-cytoplasmiques. Pour en terminer, il nous faut encore aborder une série d'expériences qui se situent un peu en marge des précédentes, et concernent le rôle du nucléole.

D - Le cas particulier du nucléole

Toutes ces études ont été effectuées par KOPAC et ses collaborateurs (III - 48 à 53).

Grâce à une technique extrêmement précise, cet auteur a pu prélever à l'aide d'une micropipette le nucléole de cellules de l'adénome de LUCKE du rein de grenouille.

Si la cellule donneuse meurt immédiatement puisque l'on a touché son noyau, il est possible d'injecter le nucléole dans une autre cellule. L'injection a été faite, la plupart du temps dans le cytoplasme de la cellule receveuse. Le nucléole conserve un aspect tout à fait normal. Comme le nucléole appartenant à la cellule, il peut présenter l'aspect d'une petite masse réfringente, ou s'entourer d'une zone claire. Un analyseur électronique d'images n'a pu

mettre en évidence aucune différence entre nucléole propre et nucléole greffé.

Grace à un ingénieux artifice, KOPAC est même parvenu à greffer le nucléole dans le noyau de la cellule receveuse. Pour cela, il injecte le nucléole à proximité du fuseau d'une cellule en télophase. La membrane nucléaire, lorsqu'elle se reformera, viendra englober le nucléole ainsi implanté.

Comme dans le cas de l'injection intra-cytoplasmique, aucune anomalie n'est observée au niveau du nucléole greffé.

Si cette série d'expériences n'a pu permettre d'approfondir nos connaissances sur la physiologie du nucléole, il n'en demeure pas moins que l'extraordinaire virtuosité technique qu'elles exigent ouvre de vastes perspectives pour l'avenir.

oOo

Toutes les expériences réalisées sur les relations nucléocytoplasmiques avaient pour but de nous renseigner d'une façon générale sur le rôle du noyau et du cytoplasme chez les eucaryotes.

Un autre des problèmes fondamentaux de la biologie peut aussi être abordé par les techniques de la microchirurgie. Il s'agit de la différenciation. De nombreux auteurs ont ainsi essayé de savoir quel rôle jouait le noyau dans les cellules embryonnaires et si ce noyau était ou non modifié par la différenciation des cellules (au sens embryologique du terme).

oOo

5 - Applications de la microchirurgie à l'embryologie

A - La technique de BRIGGS et KING. (V - 1)

Elle comporte quatre temps : 1 - le premier était connu depuis longtemps déjà, c'est l'activation de l'oeuf de grenouille par piqure. Cette activation est, comme on le sait, suivie de la rotation de fécondation de l'oeuf. Le noyau de l'ovule vient se placer sous la tache polaire.

2 - Le deuxième temps de cette technique fut décrit par PORTER en 1939 (V - 22). C'est l'énucléation de l'oeuf à l'aide d'une micro-aiguille que l'on place sous le noyau et qui va repousser celui-ci vers le haut jusqu'à ce qu'il se trouve dans la gangue muqueuse qui entoure l'oeuf.

3 - Il faut ensuite prélever le noyau d'une cellule embryonnaire. Pour cela BRIGGS et KING ont imaginé d'aspirer la cellule entière dans une micropipette dont le canal a un diamètre inférieur à celui de la cellule. La membrane cellulaire est alors déchirée, et le noyau monte dans la pipette entouré du cytoplasme qui le protège.

4 - Ce noyau est ensuite injecté avec le cytoplasme qui l'entoure dans l'oeuf énucléé. Le rôle du cytoplasme est considéré comme négligeable étant donné son très petit volume en regard du cytoplasme de l'oeuf.

Il est important de noter que le noyau est d'autant moins protégé que la quantité de cytoplasme qui l'entoure est plus faible. C'est à dire que la cellule sur laquelle il est prélevé est plus âgée puisque les cellules diminuent de taille au fur et à mesure que l'embryon avance en âge.

Toute l'expérimentation sur le rôle du noyau dans la différenciation repose sur la certitude de l'énucléation de l'oeuf. Cette certitude a été acquise en observant l'évolution des oeufs énucléés : aucun ne se développe, et en

étudiant le développement d'oeufs sans noyau fécondés : ils donnent naissance à des embryons mâles haploïdes.

Depuis BRIGGS et KING (V - 1 à 6, 13 à 17), d'autres auteurs tels que MOORE (V - 20), GURDON (V - 10), ELSDALE (V - 9) ont pratiqué les mêmes expériences sur d'autres espèces d'amphibiens. Ils ont cependant été parfois obligés de recourir à des méthodes différentes d'énucléation, notamment en ce qui regarde les urodèles. Dans ce cas, il n'y a pas d'énucléation à proprement parler, les noyaux étant détruits à l'intérieur même de l'oeuf par des radiations ionisantes. Il faut noter que c'est là un des cas où la micro-chirurgie est remplacée par l'un de ses substituts équivalents que nous avons signalé plus haut.

B - Greffes homologues à des stades variés de développement de l'embryon.

Des noyaux ont été prélevés à différents stades du développement de l'oeuf blastula, gastrula jeune, gastrula âgée, neurula et stade de bourgeon caudal. Les oeufs greffés à l'aide de ces noyaux se développent parfois jusqu'au stade larvaire et cela est d'autant plus fréquent que le noyau provient d'un stade embryonnaire plus précoce. Les autres oeufs atteignent des stades de développement variables et donnent des embryons anormaux. A l'échelle cellulaire on observe dans ces derniers cas de nombreuses anomalies chromosomiques.

Il était légitime, devant les développements différents obtenus avec des noyaux de même âge, de se demander si les embryons qui se développaient mal n'avaient pas été lésés au moment de la greffe. Cela était d'autant plus vraisemblable que les résultats favorables devenaient de plus en plus rares quand la taille des cellules greffées diminuait, c'est à dire que la quantité de cytoplasme protégeant le noyau à greffer s'amenuisait.

Pour répondre à cette question, BRIGGS et KING ont effectué des greffes successives : un oeuf déjà greffé se développe jusqu'au stade blastula, les cellules de cette blastula servent à greffer de nouveaux oeufs et ainsi de suite.

En procédant de la sorte, on s'aperçoit qu'au fil des générations le développement des embryons s'effectue de plus en plus mal. Cela renforce l'idée initiale d'une lésion mécanique du noyau lors de la greffe.

GURDON et collaborateurs ont d'ailleurs obtenu le développement d'embryon de crapeaux (*xenopus laevis*) parfaitement normaux à partir d'oeufs greffés avec des cellules musculaires différenciées.

Du fait de ces expériences accumulées, on tend actuellement à admettre la longue durée de la totipotentialité des noyaux et, peut être la conservation de cette totipotentialité dans les cellules de l'animal adulte.

C - Les greffes hétérologues

La technique de greffe de BRIGGS et KING a été utilisée de la même façon par ces auteurs et par d'autres pour étudier le développement d'oeufs énucléés greffés d'un noyau d'une autre espèce. Les croisements naturels de deux espèces différentes conduisent en effet, dans la majorité des cas, à des développements abortifs. Il était intéressant de savoir si cet arrêt était dû au noyau ou au cytoplasme de l'oeuf.

Les oeufs greffés conduisent eux aussi à un développement abortif et leur noyau présentent de nombreuses altérations chromosomiques.

Par contre, il a été possible, en croisant deux sous-espèces voisines, d'obtenir des embryons normaux et d'observer grâce à la greffe de noyau que celui-ci orientait le développement de l'oeuf vers sa sous-espèce d'origine, même après des greffes successives.

Ce phénomène doit être rapproché des expériences que nous avons vues sur les relations nucléocytoplasmiques chez les protozoaires.

D - Les expériences de LORCH, DANIELLI et HICSTRADIUS (V - 12, 18)

Reprenant les expériences très anciennes (CHABRY, 1886) ces auteurs ont voulu étudier le développement des oeufs d'oursins dont un blastomère avait été énucléé. Si le noyau et l'aster sont éliminés, le blastomère lésé va rester apparemment normal pendant 6 ou 7 heures; à ce moment, il se divise en de multiples petits globules dont le cytoplasme apparait homogène. Certains seront englobés par la larve issue du ou des blastomères restés sains et la déformeront, rendant ainsi son développement monstrueux. D'autres globules seront laissés à l'extérieur et dégèneront.

Si le noyau est enlevé, mais que l'aster est laissé en place, on observe un phénomène d'un grand intérêt : il y a une réplication normale des asters avec formation d'un fuseau et souvent un début de division cytoplasmique du blastomère énucléé. Il y a ainsi en 7 heures jusqu'à 64 asters dans ce blastomère. Au bout de ce temps, le blastomère se scinde en de nombreux globules comme dans le cas précédent. Les asters ne sont plus visibles et le cytoplasme parait homogène.

Dans une deuxième série d'expériences ces auteurs ont énucléé toutes les cellules d'un des pôles de l'oeuf.

On sait que, si l'on supprime l'un des pôles de l'oeuf, (pôle animal ou pôle végétatif), la larve donnera un embryon anormal.

Si l'on se contente d'une énucléation des cellules d'un pôle, laissant en place leur cytoplasme, deux cas peuvent s'observer :

1 - Enucléation du pôle végétatif : les cellules restantes donnent naissance à un embryon anormal tout comme si l'on avait enlevé le pôle végétatif.

2 - Enucléation du pôle animal. Dans ce cas, les cellules du pôle végétatif se développent pour donner une larve pluteus quasiment normale montrant ainsi l'influence très importante du cytoplasme du pôle animal restant.

Ces deux séries d'expériences laissent entrevoir des propriétés passées jusque là inaperçues des asters et des relations intercellulaires. Après avoir très rapidement envisagé les apports de la microchirurgie à l'embryologie, il nous faut aborder le dernier point où elle s'est montrée féconde : l'étude des cellules en mitose et des chromosomes.

6 - Etude des cellules en mitose et des chromosomes

De nombreux auteurs ont effectué depuis CHAMBERS des comparaisons sur l'état physique des cellules en interphase et en mitose. De longues discussions ont eu lieu sur la qualité du gel nucléocytoplasmique de la cellule en mitose.

Beaucoup plus intéressants sont les travaux qui ont été consacrés à la structure des chromosomes et à leur physiologie, davantage encore ceux qui ont traité la dynamique de la cellule en mitose.

A - Structure et physiologie des chromosomes (VI - 5 à 7, 11 à 15)

Le matériel le plus utilisé pour ces études est bien entendu constitué par des chromosomes géants des glandes salivaires de diptères : la structure de ces chromosomes a pu être examinée par d'ANGELO qui a réussi à extraire les chromosomes de la cellule sans les altérer. Elle a, de même pu constater que

ces chromosomes étaient enveloppés d'une membrane à l'intérieur de laquelle diverses substances ont été injectées (huile, particules de carbone, etc...). Cette membrane a été disséquée et les fibres longitudinales constituant le chromosome séparées. Une telle dissociation peut être obtenue soit mécaniquement avec une micro-aiguille, soit par l'action des cations monovalents en solution.

KRCEGER et LEZZI, s'adressant aussi aux chromosomes de glandes salivaires de chironome, réussissant à étudier *in vitro* l'action de l'Ecdysone sur la formation des anneaux de BALBIANI.

Cette étude est faite sur les cellules entières, mais aussi sur des chromosomes isolés. Ces auteurs en essayant l'action de diverses solutions salines sur les chromosomes constatent que l'action de l'Ecdysone et celle du chlorure de potassium est identique quant à la formation des anneaux de BALBIANI, provoquant une "maturation" du chromosome. Par contre, les solutions de chlorure de sodium provoquent un retour du chromosome à son état antérieur que les auteurs qualifient de "rajeunissement".

Il faut citer ici les travaux des mêmes auteurs qui ont pratiqué des greffes de cytoplasme dans les noyaux de cellules de glande salivaire du chironome. Si ces essais ont un grand intérêt technique, l'absence de survie des cellules au-delà de quelques heures ne permet pas une étude très détaillée. Il en est de même pour les expériences d'isolement de noyau dans un milieu où ceux-ci conserveraient leur physiologie normale : une grande virtuosité permet d'isoler les noyaux sans les toucher et donc sans provoquer leur éclatement, mais le seul test de leur bonne conservation est l'absence de changement dans la morphologie des chromosomes. Nous y reviendrons.

C'est sur un matériel différent de DURYEE a expérimenté, puisqu'il s'est intéressé aux chromosomes en goupillon des oeufs de batraciens : les chromosomes étant isolés, ils ont été classés selon l'existence d'épaississement en granules sur leurs différentes boucles. Leur solidité a été explorée en les

étirant par des micro-aiguilles. La partie la plus intéressante de ce travail concernent les relations entre chromosome et nucléole : DURYEE a pu montrer qu'il était impossible de détacher un chromosome du nucléole qui y était appendu sans briser le chromosome. La profonde cohésion de ces deux organismes dont on sait par ailleurs les relations physiologiques a donc été mise en évidence.

Tous ces travaux sur les chromosomes, à l'exception des études de KROEGER et LEZZI sur l'action de l'Ecdysone en restent le plus souvent au stade de l'exploration anatomique. Il en va autrement des études de NICKLAS et STAEHLY sur la dynamique de la mitose des spermatocytes de sauterelles.

B - Etude dynamique de la mitose (VI - 17 - 18)

Grâce au caractère très particulier des spermatocytes de *Melanoplus Differentialis* ces auteurs peuvent intervenir sur les chromosomes sans perforer la membrane cellulaire. Celle-ci se replie en effet en doigt de gant sur la micro-aiguille qui tente de la perforer.

A l'aide de cette micro-aiguille recouverte de la membrane, il est possible d'aller accrocher un chromosome particulier et de le déplacer à l'intérieur de la cellule.

Si l'on accroche ainsi un chromosome en fin de prophase ou en métaphase, il est impossible de le détacher du fuseau. Il peut être étirés jusqu'à quatre fois sa longueur initiale sans se rompre. Son point d'attache sur le fuseau ne se déplace pas et pas davantage les chromosomes voisins.

En anaphase, l'attitude des chromatides est tout à fait différente : si l'une d'elles est attirée vers le pôle où elle doit normalement migrer, elle se déplace et gardera l'avance qu'on lui a donnée vis à vis des autres jusqu'à la fin de la migration. De cette expérience, deux conclusions, importantes peuvent

être tirées : tout d'abord, les fibres ne semblent pas avoir de liaisons entre elles, puisque les chromatides allant vers le même pôle ne suivent pas les mouvements de celle que l'on déplace. Deuxièmement, il n'y a pas de liaison entre deux chromatides d'une même paire car le déplacement de l'une n'entraîne aucune modification dans la migration de l'autre.

Si, par contre, on attire la chromatide vers le pôle opposé et qu'on la maintient dans cette position pendant un quart d'heure, elle retourne toujours vers son pôle initial. En anaphase tardive, cependant, et en maintenant fermement la chromatide, il est possible de l'inclure dans le noyau opposé. Il ne semble pourtant pas, même à ce moment que la chromatide se soit détachée de sa fibre fusoriale d'origine.

Dans un deuxième article (VI - 18), NICKLAS donne le compte-rendu d'autres expériences qui ont permis d'étudier plus avant les mécanismes complexes de la migration des chromosomes. Il réussit en effet à détacher un chromosome du fuseau en prométaphase. Ce chromosome a pu être déplacé dans tout le cytoplasme de la cellule. Une fois laissé à nouveau libre de se mouvoir, il va se rapprocher lentement du fuseau et s'y accrocher de nouveau, les deux chromatides filles migreront normalement chacune vers un pôle de la cellule.

De plus, il est pratiquement impossible de perturber la répartition des chromatides au cours de la mitose : si l'on détache un chromosome bivalent du fuseau et que l'on prenne soin que ses deux centromères s'attachent à la même fibre, même si les deux chromatides commencent à migrer vers le même pôle, elles se séparent et l'une d'elles regagne le pôle opposé. Si, maintenant, on attrape une chromatide et qu'on la maintienne de façon prolongée près du pôle opposé, la deuxième chromatide de la paire va quitter sa fibre pour aller s'attacher à celle qui a été laissée libre par sa congénère. Elle migrera ainsi vers le pôle qui ne lui était pas destiné.

Deux chromatides détachées se réorienteront en allant vers le pôle le plus proche d'elles, sauf si elles sont mises ensemble au sein du cytoplasme. A ce moment, elles s'orienteront toutes les deux vers le même pôle et c'est seulement une fois revenues à la plaque équatoriale que le réarrangement bipolaire se fera.

Il n'est pas besoin d'insister pour voir que ces expériences éclairent d'un jour tout à fait nouveau non seulement les problèmes posés par les relations des chromosomes avec le fuseau, mais encore ceux què soulevaient le faible pourcentage d'anomalies de répartition des chromosomes au cours des mitoses.

Avant de clore l'exposé des travaux effectués en physiologie cellulaire grâce à la micrurgie, il nous faut faire le point des données recueillies sur la physiologie des cellules de mammifère .

7 - Données acquises sur les cellules de mammifère.

En dehors des travaux que nous avons déjà signalés, fort peu d'études ont été récemment consacrées aux cellules de mammifère. Il s'agit là, en effet, d'un matériel particulièrement délicat. Ce sont des éléments de très petite taille qui nécessitent des outils d'une finesse extrême. Une lésion du cytoplasme sur une étendue supérieure à 5 microns provoque leur mort et il en est de même si un outil effleure le noyau , ce qui est nécessairement fréquent du fait de l'importance du rapport nucléo-cytoplasmique.

En pratique, les travaux les plus récents n'ont pas dépassé le stade atteint par CHAMBERS et FELL dès 1931 (VII-2). GOLDSTEIN et collaborateurs (VII - 7, 8) n'ont pu que sectionner en deux des cellules dont une partie du cytoplasme était reliée au reste de la cellule par un pont de diamètre inférieur à 5 microns. Dans ces conditions, ils ont obtenu une survie des fragments anucléés jusqu'à 84 heures. Ils ont remarqué que les fragments qui survivaient le plus longtemps étaient ceux qui étaient en contact avec des cellules normales.

Les fragments qui survivent ainsi de façon prolongée voient se former dans leur cytoplasme une structure particulière : sorte d'anneau pâle situé au centre du fragment et constitué d'un gel très ferme, ressemblant à un noyau sans membrane auquel a été attribué le nom de "granular ring".

Au total, les renseignements recueillis par la microchirurgie sont très pauvres.

Une fois effectué ce rapide tour d'horizon concernant les principaux travaux entrepris par les microchirurgiens, à l'exclusion répétons-le, de tout ce qui est dû aux techniques de micromanipulation et aussi des études particulières portant sur les courants d'action de la cellule nerveuse, il nous reste à examiner si la microchirurgie offre encore des possibilités en tant que technique de recherche, et les problèmes qu'il faut surmonter pour en tirer tout le profit souhaitable.

III - POSSIBILITES ET PROBLEMES ACTUELS DE LA MICROCHIRURGIE

Pour nous bien rendre compte des possibilités qu'offre à l'heure actuelle la microchirurgie, il nous faudra envisager successivement les problèmes qui se posent au point de vue technique, les difficultés que présente le matériel cellulaire utilisé et les milieux de cultures et d'opération qu'il exige, enfin, les techniques d'observation susceptibles d'explorer les phénomènes qu'aura provoqués l'expérimentation.

1 - L'état des techniques à l'heure actuelle

Comme nous l'avons indiqué en commençant ce travail, le progrès des techniques a une importance primordiale dans la recherche. C'est du progrès même de l'appareillage que viendront les possibilités expérimentales et, par là même, l'explication de certains caractères de la physiologie cellulaire.

Quelles sont donc les performances que permettent les micromanipulateurs actuels, et quelles sont leurs inconvénients?

A - Les micromanipulateurs

Si l'on considère les possibilités des deux meilleurs manipulateurs actuels : le manipulateur pneumatique de FONBRUNE et celui d'ELLIS, qui met

en jeu la piézoélectricité, il faut bien séparer deux éléments différents de l'analyse : les possibilités théoriques de ces deux appareils et leurs inconvénients en pratique.

Dans les deux cas, ces appareils font appel à des phénomènes physiques de déformation continue. Dans l'un, il s'agit de déformation d'un métal sous des forces de pression, dans l'autre, de la déformation de céramiques sous l'action du courant électrique. En tout état de cause, donc, le déplacement obtenu à l'aide de ces appareils peut être aussi petit qu'on le désire avec une précision toujours excellente.

L'appareil d'ELLIS possède en outre l'avantage de pouvoir imprimer à l'outil des mouvements de vibration.

Malheureusement, dans un cas comme dans l'autre, le manipulateur est situé en dehors de la platine du microscope; il faut donc que l'outil qui va du système moteur à la cellule soit très long. Il en résulte nécessairement deux ordres de phénomènes :

1 - L'extrémité de l'outil amplifie toutes les vibrations que subit le socle supportant le micromanipulateur. Il faut alors pratiquement isoler le laboratoire entier des vibrations si l'on veut travailler sous un fort grossissement ($X = 1000$). Malgré tout, il suffit qu'une personne marche dans la pièce pour que l'extrémité de l'outil se déplace de plus de 20 microns, c'est à dire d'une distance analogue à celle du diamètre cellulaire.

2 - De même, l'élasticité de l'outil, et éventuellement de son support, font que l'extrémité de l'outil ne suit plus parfaitement les déplacements qu'on lui impose.

Une autre gêne pour l'utilisateur vient de l'encombrement de ces appareils et de leur système de commande. Il est très malaisé de se servir de

plus de quatre appareils simultanément ; en ce qui concerne le manipulateur d'ELLIS l'inconvénient est un peu moindre puisqu'il comporte trois supports d'outils indépendants . Malheureusement seul l'un de ces trois supports possède tous les perfectionnements de l'appareil.

Outre les imperfections des micromanipulateurs proprement dits, il faut signaler celles, tout aussi gênantes que présentent les micro-outils.

B - Les micro-outils

Nous avons vu dans la première partie de ce travail que leur nombre était extrêmement limité : aiguilles, scalpels, crochets et anses, microélectrodes et pipettes.

Les scalpels sont inutilisables sous le fort grossissement du microscope du fait de leur grande taille et de la difficulté de leur maniement.

Les micro-électrodes sont très spécialisées quant à leur emploi.

Il ne reste donc, pratiquement, que les micro-aiguilles, les pipettes et deux instruments de contention. Quel chirurgien pourrait se contenter d'une instrumentation aussi modeste ? En outre, plusieurs de ces outils présentent des inconvénients d'un autre ordre : les crochets et anses qui sont très bien adaptés pour maintenir en place les protozoaires se révèlent inutilisables quand il s'agit des cellules de mammifères. En effet, celles-ci sont trop fragiles pour supporter le contact brutal d'instruments aussi grossiers. De surcroît, elles adhèrent fréquemment au verre de l'outil et il devient alors impossible de l'enlever, sous peine d'arracher la membrane cellulaire.

Les pipettes, quant à elles, présentent des inconvénients différents : si il est aisé de réduire leur canal intérieur jusqu'à 1 micron, ce qui donne une dimension hors tout de 3 microns environ, s'il est également relativement

facile d'injecter une substance quelconque avec des pipettes de cette dimension, il est, par contre, presque impossible d'utiliser des pipettes de calibre inférieur, même si l'on parvient à les obtenir.

Or, si l'on compare les trois microns de la pipette à la taille d'une cellule animale, on peut prévoir que le traumatisme que subira la cellule lors de l'introduction de l'instrument ne lui laissera guère de chances de survie.

Enfin, il faut signaler quelques défauts mineurs que présentent l'ensemble des micro-instruments : le temps prolongé que demande leur fabrication et leur durée de vie très courte, qui l'une comme l'autre, ralentissent de façon importante les processus expérimentaux.

C - Possibilités et intérêt actuels de la technique.

Deux cas doivent être considérés, selon qu'il s'agit de protozoaires de taille supérieure ou égale à 50 microns ou bien d'autres cellules.

Dans le premier cas, de nombreuses expériences ont déjà été réalisées, montrant à l'évidence la validité de la microchirurgie comme méthode d'étude. Les possibilités sont grandes pour réaliser d'autres explorations puisqu'on peut à volonté greffer des noyaux, pratiquer des injections de substances les plus diverses, prélever des particules cytoplasmiques ou les injecter.

Il en est tout autrement pour des cellules de taille inférieure, et a fortiori, pour des cellules animales. Micromanipulateurs et outils sont là tout à fait inaptes à assurer une expérimentation correcte. En effet, les améliorations apportées par KOPAC aux micro-injecteurs, l'approche réalisée par PRENANT pour l'étude des cellules de mammifères, la grande habilité de NICKLAS ne doivent pas faire oublier que la microchirurgie ne peut servir que dans des circonstances très particulières sur les cellules de méta-

zoaires, comme nous l'avons montré plus haut. Il faut noter que les techniques actuellement utilisées sont très loin d'avoir pris leur développement maximum : nous avons vu que les possibilités théoriques des appareils ont une finesse qui dépasse largement les exigences de la microscopie optique.

Il pourrait paraître plus simple, dans ces conditions, de s'adresser à d'autres techniques qui peuvent s'adapter à la chirurgie cellulaire :

D - Techniques particulières

1 - En tout premier lieu, on peut penser à utiliser les radiations ionisantes ou le rayonnement LASER. Il est en effet possible de focaliser de façon très fine ces divers rayonnements et d'obtenir de la sorte des lésions très étroites dans la cellule. Il est par exemple possible d'irradier un organite cellulaire tel qu'un nucléole.

Malheureusement ces méthodes ne présentent ni spécificité ni localisation réelle de l'impact dans la cellule. En effet, on ignore presque totalement les effets que produisent de telles radiations au niveau de la cellule. Les expériences de DANIELLI que nous avons rapportées montrent que des lésions causées au cytoplasme peuvent agir sur le noyau de la cellule et inversement. On ne sait donc pas en fin de compte quelle intervention l'on pratique sur cette cellule.

De plus, le rayonnement traversant toute l'épaisseur de la cellule, on atteint non seulement le point visé, mais toute la région du cytoplasme située au-dessus et au-dessous de lui, ainsi que la membrane cellulaire.

Les substances produites par l'irradiation peuvent en outre avoir des effets secondaires toxiques qu'il est impossible de séparer des effets à long terme de la destruction d'un organite.

Il est bien évident que, dans de telles conditions, la destruction d'organites par les divers modes d'irradiation ne peuvent pas remplacer la microchirurgie, dont l'action est plus spécifique et plus précise quand elle est utilisable.

2 - Plus intéressante est la méthode d'hybridation de cellules par action de particules virales telle qu'elle a été proposée par HARRIS. Elle a permis d'obtenir la fusion et la survie de cellules aussi différentes que des cellules humaines et des érythrocytes de poule réalisant ainsi ce que l'on pourrait appeler une greffe totale (noyau et cytoplasme) d'une cellule dans une autre. C'est jusqu'à présent, la seule méthode "chirurgicale" qui puisse être utilisée sur des cellules de vertébrés supérieurs. Cette méthode présente cependant de graves inconvénients :

- Elle met en jeu un virus vivant dont l'action sur le métabolisme cellulaire reste à déterminer.

- Elle ne permet pas d'autre intervention qu'une greffe cellulaire totale. Il sera donc extrêmement difficile de déterminer le rôle respectif du noyau et du cytoplasme.

- Elle est irrégulière dans ses résultats : donnant des cellules dont le nombre des noyaux est variable. Ces noyaux sont répartis purement au hasard. Si la moyenne est effectivement de 50 % de noyaux d'une espèce pour 50 % des noyaux de l'autre, il existe d'importants écarts à la moyenne.

Cette méthode n'en demeure pas moins intéressante dans les cas où la présence simultanée du noyau et du cytoplasme n'est pas gênante et où l'on peut ne pas tenir compte de l'action du virus sur le métabolisme cellulaire. De toutes façons, elle ne peut être considérée comme un substitut à la microchirurgie.

Il apparait donc que les méthodes que nous venons de voir ne peuvent suppléer la microchirurgie que dans des cas très particuliers, et, souvent, de façon aléatoire. Elles ne possèdent pas, par essence, les caractères d'une méthode générale pour l'exploration de la cellule vivante. Par contre, malgré toutes les difficultés techniques qui demeurent la microchirurgie a bien vocation de méthode générale.

Outre les difficultés qui sont le fait du matériel, il en est d'autres qui tiennent aux cellules elles-mêmes. Il est temps de les examiner pour savoir si elles peuvent être surmontées ou si elles amèneront à classer la microchirurgie au rang de méthode périmée.

2 - Le matériel cellulaire

Nous ne tiendrons compte ici que du matériel sur lequel des expériences ont déjà été réalisées. Il comprend d'ailleurs des échantillons de nombreux ordres zoologiques.

A - Les protozoaires

Ils représentent le matériel le plus fréquemment utilisé en microchirurgie car ils offrent d'incalculables avantages : la résistance extrême des membranes cellulaire et nucléaire, leur taille relativement très importante, leur extraordinaire faculté de supporter les traumatismes les plus graves. Malheureusement, ces incontestables avantages sont assortis de défauts qui limitent leur emploi.

Du fait même de leur grande taille, ils sont d'une observation difficile. Ils contiennent le plus souvent des inclusions cytoplasmiques abondantes qui gênent également l'expérimentateur. Mais ce n'est là qu'imperfections minimales qui pourraient être surmontées s'ils n'étaient pas affligés d'un vice majeur :

Il s'agit d'êtres unicellulaires dont la physiologie est très éloignée de celle des cellules de métazoaires au point que des auteurs de plus en plus nombreux leur refusent même le nom de cellule. Cela revient à dire qu'il est impossible de généraliser aux autres organismes les processus physiologiques qui pourront être découverts chez les protozoaires. La microchirurgie ne peut donc pas dépasser ici le stade de la protistologie.

B - Les oeufs

Au cours de ce travail, nous avons pu constater que nombre d'auteurs avaient choisi des oeufs de diverses espèces pour effectuer leurs recherches.

Si ce matériel est, sous certains aspects, plus proche des cellules habituelles, il n'en demeure pas moins que les critiques valables pour les protozoaires le sont aussi pour eux.

C - Les cellules d'insectes

Deux types cellulaires seulement ont été étudiés dans cette classe ; il s'agit des cellules de glande salivaire des larves de diptères et des spermatocytes de sauterelle.

Si le premier type présente un caractère tout à fait spécial dans le règne animal et est, par nature, utilisé uniquement pour aborder certaines propriétés des chromosomes, il n'en est pas forcément de même du second type : Les spermatocytes sont des cellules qui ont de nombreuses analogies avec les cellules ordinaires. Deux particularités les en différencient cependant : en premier lieu, la souplesse et l'élasticité remarquables de la membrane qui empêche tout instrument de pénétrer à l'intérieur de la cellule ; mais aussi

l'évolution de ces cellules qui, après peu de temps en culture subissent une méiose.

Ces deux caractères réduisent évidemment l'usage que l'on peut faire d'un tel matériel.

D - Les cellules d'amphibiens

En dehors des oeufs, employés par de nombreux auteurs, ces animaux ont fourni des cellules d'expérience à KOPAC. Il s'agit cette fois de cellules tout à fait banales si l'on ne tient pas compte de leur caractère néoplasique. Si elles sont de taille un peu supérieure aux cellules de mammifère, elles en possèdent toutes les propriétés morphologiques et physiologiques en dehors de la nécessité de les cultiver à 37 degrés. Elles ne possèdent donc également tous les défauts auxquels s'ajoute celui de n'être pas une cellule de mammifère et de rendre ainsi quelque peu hasardeux une généralisation de l'une à l'autre. Nous les étudierons avec les cellules de mammifères, constatant les difficultés considérables que soulève l'emploi de l'un ou l'autre type cellulaire.

E - Les cellules de mammifères

Depuis CHAMBERS, un nombre très important de chercheurs a essayé d'appliquer aux cellules de mammifères les techniques microchirurgicales, en vain. En dehors de renseignements sur la consistance de ces cellules, ou sur quelques données de leur chimisme, aucun résultat proprement physiologique n'a pu être obtenu.

Quelles sont les causes de cet échec ?

1 - Leur petite taille rend très difficile leur manipulation : les micro-outils doivent atteindre les limites extrêmes de nos possibilités actuelles et encore demeurent-ils trop grossiers, nous l'avons vu.

2 - Leur extrême fragilité ne permet pas de les exposer au traumatisme important que nécessite l'intervention : une ouverture de 1 micron cause déjà des perturbations très importantes et souvent la mort cellulaire. Quant au noyau, personne jusqu'à présent, n'a pu même le toucher sans provoquer une mort instantanée de la cellule.

3 - Leur grand rapport nucléo-cytoplasmique rend très difficile l'introduction dans la cellule d'un instrument et, a fortiori, de substances ou d'organites divers puisqu'il ne faut pas toucher le noyau et que le cytoplasme est très exigü.

Les difficultés que présente l'emploi d'un tel matériel sont, on le voit, énormes. Elles sont cependant compensées en partie par des avantages très importants :

Ces cellules sont, sans aucun doute, celles qui ont été le plus souvent étudiées par les autres techniques de recherche. Les moyens d'investigation dont on dispose à leur égard sont bien plus nombreux que pour les autres types cellulaires, ce sont les cellules dont on connaît le mieux la physiologie normale. Si l'on peut intervenir sur elles, il sera donc assez facile d'y mettre en évidence le plus léger trouble, la plus discrète perturbation métabolique.

En outre, ne s'agit-il pas de nos propres cellules, et n'est-ce pas l'homme avant tout qui doit être l'objet de nos recherches ?

Après l'examen des difficultés techniques et de celles qui sont dues à la constitution même des cellules, les idées que nous pouvions avoir sur les possibilités de la microchirurgie se sont déjà classifiées ; il reste cependant d'autres obstacles à l'utilisation de cette technique.

3 - Les conditions de culture et d'opération

A - Les conditions de culture

Si les conditions de culture avant l'intervention n'ont aucun caractère particulier, il n'en est pas de même des impératifs exigés par la survie des cellules après le choc opératoire. En effet, les difficultés de l'intervention et de la préparation des instruments font que très peu de cellules peuvent être opérées dans la journée.

De plus, si l'on veut pouvoir suivre ces cellules de façon prolongée, il faut qu'elles demeurent isolées les unes des autres et ne puissent pas se déplacer. Cette difficulté est aisément surmontée quand il s'agit de protozoaires. En effet, ceux-ci peuvent se cultiver de façon isolée et il est très simple d'obtenir un clône en partant d'un seul organisme ce qui permet de suivre pendant plusieurs générations les effets de l'expérimentation.

Pour les cellules de mammifères, il en est tout à fait autrement. Les méthodes de clônage qui sont utilisées ne permettent pas actuellement de cultiver une seule cellule déterminée à l'avance dans une enceinte où ne sont pas présentes d'autres cellules. Jusqu'à présent, les auteurs qui ont travaillé sur des cellules en culture ont utilisé des cellules qui s'attachent au verre. Pour les repérer, ils ont éliminé à l'aide de micro-instruments, toutes les cellules situées au voisinage de la cellule opérée. Cela permet de suivre le développement de la cellule ou du clône qui en résulte pendant un ou deux jours, le développement de la culture tendant à combler l'espace libre ménagé entre la cellule opérée et ses congénères.

Il serait certes plus facile et plus rigoureux de suivre une cellule isolée au sein d'une microgoutte de milieu de culture que sa présence suffirait "à conditionner". Malheureusement, de telles gouttes sont si petites que, même dans la chambre à huile, elles s'évaporent très vite.

Il faut ensuite constater que la méthode consistant à éliminer les cellules autour de celle qui a été opérée est inutilisable quand il s'agit de cellules libres n'adhérant pas au verre. Si l'on veut conserver à la microchirurgie son caractère de méthode générale d'expérimentation sur la cellule vivante, tout demeure à inventer dans le domaine des expériences sur cellules libres.

B - Les conditions d'opération

Cultiver la cellule après une intervention est nécessaire, mais cela suppose qu'une telle cellule ait survécu à l'intervention elle-même. Les protozoaires, nous l'avons vu, sont capables de supporter des traumatismes très sévères et de se cicatriser même dans de l'eau distillée. Il n'est pas question, par contre, que des cellules de mammifères supportent des conditions aussi drastiques. Nous avons vu, d'ailleurs, que ces cellules ne supportaient pas, dans leur milieu de culture habituel, des lésions dont la taille dépasse 5 microns (pour les plus grosses d'entre elles). Il est même très fréquent de les voir éclater pour des lésions de l'ordre du micron.

Plusieurs auteurs ont donc essayé de trouver des milieux d'opération qui permettent une survie plus prolongée. CHAMBERS a ainsi étudié l'influence des cations sur la cicatrisation de la membrane, mettant en évidence le rôle néfaste des cations monovalents sur la cicatrisation alors que les ions divalents auraient une influence bénéfique. KROEGER a aussi essayé de rendre le milieu plus visqueux en ajoutant une concentration assez importante de méthyl cellulose. Cela empêche l'éclatement de la cellule, mais n'arrête pas une fuite lente du cytoplasme vers l'extérieur.

Les conditions d'opération des cellules de métazoaires ne sont donc pas encore établies. En dehors des milieux de culture et d'opération, il reste à envisager un type particulier de milieu permettant de conserver vivants des organites cellulaires tels que noyaux, fractions de cytoplasme, nucléoles, etc...

C - Les milieux de conservation

En effet, si l'on veut injecter une quantité observable d'organites cellulaires, il est indispensable d'en avoir en suspension relativement concentrée : car la plupart d'entre eux sont trop dilués dans le cytoplasme pour que l'on puisse espérer les injecter seuls. Il faut donc les isoler dans un premier temps dans un milieu qui conserve toutes leurs fonctions. Si cela est possible pour quelques-uns (les ribosomes par exemple), il n'existe pas dans la plupart des cas de milieux de conservation réellement physiologiques. Ceux qui ont été décrits jusqu'à ce jour ne conservent guère que la morphologie des organites ou, au mieux, quelques-unes de leurs fonctions.

La difficulté de stockage des organites est d'ailleurs la même qu'il s'agisse des protozoaires ou des cellules de mammifères.

La technique de conservation, par rapport aux problèmes que nous avons envisagés jusqu'ici, n'est en quelque sorte qu'une technique de second ordre car toutes les interventions d'exérèse sont possibles sans elle et il existe vraisemblablement des méthodes appropriées pour tourner cette difficulté dans chaque cas particulier.

Il n'est par contre pas possible de se passer de moyens d'observation pour examiner les résultats des opérations pratiquées sur les cellules. A priori, il semble précomptueux de considérer comme un obstacle l'observation des cellules alors que microscopie électronique, autoradiographie, microspectrophotométrie, ultracentrifugation et analyses biochimiques sont à notre disposition. En examinant une par une ces différentes méthodes d'observation nous verrons pourtant que de nombreux problèmes se posent à leur propos.

4 - Les moyens d'évaluation des résultats

A - La microscopie optique et la microcinématographie

Ces méthodes sont les seules qui permettent une observation de la cellule à l'état vivant et, par là même, une étude prolongée des modifications induites par l'expérimentateur dans la vie de la cellule. Elles sont irremplaçables pour l'étude des phénomènes dynamiques.

Il faut cependant reconnaître que le pouvoir séparateur du microscope optique est faible et qu'il est bien souvent insuffisant pour l'observation des résultats d'expériences puisque celles-ci peuvent s'intéresser à des organites invisibles en microscopie optique (ribosomes par exemple).

B - La culture cellulaire

Pour évaluer les résultats de certaines interventions, il est parfois nécessaire d'observer les cellules du clône obtenu à partir de la cellule opérée.

Un autre avantage de la culture cellulaire en tant que moyen d'évaluation des résultats est de permettre le prélèvement des cellules à des temps variables après l'expérience pour une observation fine (microscopie électronique par exemple), permettant ainsi de rétablir une notion de dynamique cellulaire que la méthode d'observation employée ne permet pas par elle-même.

Nous avons examiné plus haut les difficultés que présente la culture de cellules opérées, nous n'y reviendrons pas.

C - La microspectrophotométrie

permet de reconnaître certains éléments à l'intérieur de la cellule par leur absorption de lumière à des longueurs d'ondes caractéristiques.

Malheureusement, elle n'est pas assez sensible pour révéler la présence de quelques molécules supplémentaires que l'on introduira dans la cellule. Pas assez sensible non plus pour distinguer l'une de l'autre des molécules voisines telles que le DNA d'une espèce cellulaire et celui d'une autre espèce.

Si cette méthode peut être utile dans certains cas, elle est relativement grossière et son utilisation est, de ce fait, limitée.

D - La microscopie électronique

Sans parler des inconvénients qui se présentent pour transférer au microscope électronique une seule cellule choisie à l'avance, la nature même des observations rend dans certains cas cette méthode aléatoire.

En effet, si l'on introduit dans une cellule des organites qui ne diffèrent pas essentiellement de ceux de la cellule elle-même, par exemple des molécules de RNA messenger, ou des polyribosomes, il sera impossible de les distinguer quelque soigneuse que soit l'observation.

Certes, si l'on fait pénétrer dans la cellule des éléments très différents, tel qu'un noyau d'une autre espèce cellulaire, la microscopie électronique reste une méthode de choix. Il était cependant important de remarquer qu'elle ne répond pas à beaucoup de nos besoins.

E - La cytochimie

Peut seule distinguer chaque molécule. Si la cytochimie classique par diverses colorations spécifiques, est trop peu sensible, il existe d'autres méthodes dont la finalité est identique et qui permettent de mettre en évidence la présence de quelques molécules à l'intérieur d'une cellule. Il s'agit des techniques d'autoradiographie et d'immunofluorescence.

Ces techniques sont malheureusement d'un emploi difficile et leurs causes d'erreur sont très nombreuses. Mais elles ont seules la sensibilité et la spécificité nécessaires. Encore faut-il signaler une imperfection de l'autoradiographie due à l'instabilité du marquage : en effet, si dans certains cas comme celui du marquage du DNA par la thymidine tritiée le marquage peut être considéré comme stable, dans de nombreux autres cas, il n'en est pas de même et il existera de nombreux transferts de marquages prévisibles entre les corps introduits dans la cellule et ceux qui la constituent.

L'analyse biochimique des constituants de la cellule en système acellulaire pourrait, elle aussi, permettre une évaluation très fine des modifications induites par l'intervention. Pour le moment, cette méthode est le plus souvent inutilisable car, pour faire un dosage biochimique précis, il faut, sauf exception, une quantité de substrat largement supérieure au contenu d'une seule cellule. Nous avons vu que les difficultés expérimentales ne permettent pas d'effectuer des expériences en nombre suffisant pour qu'une analyse biochimique soit possible.

F - Les injections à l'animal.

Dans certaines conditions, l'injection des cellules opérées à l'animal dont elles proviennent peuvent se révéler extrêmement précises, par exemple dans le cas où l'on injecte à la cellule des substances qui provoqueront sa cancérisation. Mais cette méthode a des applications très spécifiques, donc très limitées.

oCo

Ainsi, nous avons examiné successivement au cours de ce travail les expériences déjà effectuées à l'aide de la microchirurgie et les difficultés qui se présentent si l'on veut faire de cette technique une méthode générale d'étude de la physiologie cellulaire. Il ne nous reste plus qu'à porter un jugement sur ses possibilités pour l'avenir.

IV - CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

1 - L'étude approfondie des principales expériences déjà réalisées a montré :

- L'importance primordiale des perfectionnements techniques dans notre branche particulière pour un développement de l'expérimentation.

- L'intérêt certain de la méthode pour l'étude des propriétés physico-chimiques de la cellule, des relations nucléo-cytoplasmiques, de la mitose et des chromosomes, pour son application au problème de la différenciation cellulaire en embryologie.

- Par contre, il n'a pas été possible, jusqu'à présent, d'explorer la physiologie des cellules de mammifères grâce à la microchirurgie. D'une façon plus générale, les cellules de métazoaires constituent pour cette technique un matériel extrêmement fragile sur lequel très peu de renseignements ont pu être obtenus.

2 - Pour permettre de poursuivre les études de physiologie cellulaire à l'aide de la microchirurgie, nous avons passé en revue les principaux problèmes que pose, à l'heure actuelle, l'usage de cette méthode. Il nous est apparu,

- Que les techniques dont nous disposons sont imparfaites, tant en ce qui concerne les micromanipulateurs que les micro-outils, mais que ces techniques sont loin d'avoir atteint leurs limites. Il est donc relativement aisé de les perfectionner.

- Que le matériel cellulaire utilisé jusqu'à présent ne permet pas d'obtenir des résultats généralisables au mammifère ou à l'homme (si l'on veut obtenir de tels résultats, il est indispensable d'étudier directement la cellule de mammifère.)

- Qu'il n'existe pas encore de méthode permettant la culture d'une cellule isolée de mammifère dans les conditions particulières de la microchirurgie.

- Que la conservation des propriétés physiologiques des organelles en dehors de la cellule n'est pas possible (à quelques exceptions près).

- Que les moyens d'évaluation des résultats sont longs et difficiles. Ils nécessitent, pour la plupart la mort de la cellule ce qui rend malaisée l'observation de phénomènes dynamiques.

3 - En conséquence, la microchirurgie voit s'ouvrir devant elle deux perspectives d'avenir :

Ou bien elle se contente des méthodes et du matériel expérimentaux utilisés jusqu'à présent, et dans ce cas, on peut craindre qu'elle ne puisse rendre de service qu'en protistologie.

Ou bien elle cherche à s'adapter pour expérimenter sur les cellules de mammifères, mais cela exige un perfectionnement des appareils, des méthodes de culture et d'opération et des moyens d'observation. Ces perfectionnements sont certes extrêmement complexes, mais à notre avis, possibles. C'est seulement s'il se réalisent que la microchirurgie pourra répondre à sa vocation de méthode générale d'étude de la physiologie cellulaire, en particulier de la physiologie des cellules humaines normales et pathologiques.

Vu, le Président de Thèse :

Vu, le Doyen de la Faculté :

J BERNARD

G. BROUET

Vu et permis d'imprimer
le Recteur de l'Académie de Paris

J. ROCHE

BIBLIOGRAPHIE

I - LES PRECURSEURS

=====

1 - BARBER M.A., 1904

J. Kansæ Med. Soc. 4 487.

2 - BARBER M.A. 1911

J. infectious deseases 8 348.

3 - BARBER M.A. 1914

The pipette method in the isolation of single microorganisme
and in the inoculation of substances into living eells.

The Philippine J. of Science 9 308-358.

4 - CHABRY L. 1886

Tube capillaire porte objet et perforation des éléments cellulaires.

C.R. Soc. Biol. 2 322-323.

5 - CHABRY L. 1886

Note sur les monstres demi-individus latéraux.

C.R. Soc. Biol. 2 323-324.

6 - CHABRY L. 1887

Contribution à l'embryologie normale et tératologique des
ascidies simples.

J. de l'Anat. et de Physiol. 25 167.

7 - KITE G. L. 1912

Science 36 562.

8 - KITE G. L. 1913

Am. J. Physiol. 32, 146

9 - KITE G. L. 1914 a

Science 39 843 Abstr.

10 - KITE G. L. 1914 b

J. Infectious diseases 15 319.

11 - KITE G. L. and CHAMBERS R. 1912

Vital staining of chromosomes and the function and structure of the nucleus.

Science 36 639.

12 - MAC CLENDON J. F. 1906

Experiments on the eggs of Chaetopterus and asterias in which the chromatin was removed.

Biol. Bul. 12 141

13 - MAC CLENDON J. F. 1909

Protozoan studies.

J. Exptl. Zool. 6 265-281

14 - NAVILLE A. 1930

L'emploi du micromanipulateur de Peterfi : fabrication et montage des micro-instruments, I.

Bul. Histol. Appl. Phys. et Path. 7 9 273-299 et 311-332.

15 - PETERFI T. 1920 ou 1923 a

Mikrurgische methodik

Abderhalden Handbuch der Biolog. Arbeitsmethod.

Chap. 5 (2) 479.

16 - PETERFI T., 1923 b

Natur Wissenschaften Jahrb. 6 81.

17 - PETERFI T. 1924

Z. Wiss. Mikroskop. 41, 263

18 - PETERFI T. 1927 a

Die Wirkung des Anstochens auf das Protoplasma.
Arch. für Expil. Zellforsch. Gewebezucht. 4 155.

19 - PETERFI T. 1927 b

Die Mikrurgie der Gewebekulturen.
Arch. Für Exptl. Zellforsch. Gewebezucht 4 165-174.

20 - PETERFI T. 1928

Die Technik der Zelloperationen (Mikrurgie)
Methodik der Wiss. Biol. 1 559-588.

21 - PETERFI T. und KAPEL O. 1928

Die Wirkung des Anstechens auf das protoplasma der in
vitro Gezüchteten Gewebezellen.
Mikrurgische Untersuchungen an den Geschwulstzellen Z. F.
Krebsforsch. 26 89

22 - PETERFI T. und MOSCHKOWSKI S.C. 1928

Mikrurgische Verauche an Leishmanien
Arch. Protistenk. 60 (3) 492-500.

23 - SCHMIDT H.D. 1859

Am. J. Med. Sci. 73, 13

24 - SCHMIDT H.D. 1869

New Orléans J. Med. 22 627.

25 - SCHMIDT H.D. 1870

New Orléans J. Med. 23 274

26 - SCHOUTEN S.L. 1889

En Methode voor het maken van reinculturen.
Handelingen v. h. 7e Nederl. Nat. en Gen. Congr.

27 - SCHOUTEN S. L. 1901

Zentr. Bacteriol. I 780

28 - SCHOUTEN S. L. 1905

Z. Wiss. Mikroskop. 22 10

29 - SCHOUTEN S. L. 1907

Z. Wiss. Mikroskop. 24 258

30 - SCHOUTEN S. L. 1931

Die Nadeln des Mikromanipulators

Acta Brevia Neerl. de Phys. Pharm. Microb. EA. t. 1.2. et 1.3.

31 - SCHOUTEN S. L. 1934

Der micromanipulator.

Zeitsch. für Wissensch. Mikroskop. Tech. 51 421-515

32 - SCHOUTEN S. L. 1935

Untersuchungen mit dem mikromanipulator

Arch. f. exp. Zellforsch. 17 429-455

33 - SEIFRIZ W. 1921

Physical properties of protoplasm

Ann. Botany London 35 269.

34 - SEIFRIZ W. 1924

Brit. J. Exptl. Biol. 2 1

35 - SEIFRIZ W. 1926

Physical properties of erythrocytes.

Protoplasma I 345

36 - SEIFRIZ W. 1927

New material for microdissection

Protoplasma 3 191

37 - SEIFRIZ W. 1936

Micrurgie

In Protoplasm, Mc Graw Hill Ed. N.Y. p. 47-64.

38 - SEIFRIZ W. 1947

The properties of protoplasm. With special reference to the influence of enzymic reactions.

Interscience publishers 7 35-64.

39 - TAYLOR C.V. 1920

An accurately controllable micropipette

Science 51 17

40 - TAYLOR C.V. 1920

The Neuromotor system in Euplotes

Univ. Calif. (Berkeley) Publ. Zool. 19 403

41 - TAYLOR C.V. 1923

Removal of the micronucleus in Euplotes

Anat. Rec. 26 376

42 - TAYLOR C.V. 1925

Univ. Calif. (Berkeley) Publ. Zool. 26 443

43 - TAYLOR C.V. 1925

Microelectrodes and micromagnets

Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 23, 147

44 - TAYLOR C.V. and FARBER W.P. 1924

Fatal effects of the removal of the micronucleus in Euplotes

Univ. Calif. Publ. Zool. 26 131-141

45 - VERWORN M. 1891

Arch. f. d. ges. Physiol. 51

II - TECHNIQUES

=====

1 - ALEXANDER and NASTUK 1953

An instrument for the production of microelectrodes used
in electrophysiological studies.
Rev. Sci. Instr. 24 528-531

2 - BARBER M.A. 1904

J. Kansas Med. Soc. 4 487

3 - BARBER M.A. 1911

J. Infectious diseases 8 348

4 - BARBER M.A. 1914

The pipette method in the isolation of single microorganisms
and in the inoculation of substances into living cells.
The Philippine J. of Science 9 308-358

5 - BISHOP and THARALDSEN 1921

An apparatus for microdissection
Amer. Nat. 55 381

6 - BRIGGS R. and KING T.J. 1952

Transplantation of living nuclei from blastula cells into
enucleated frog egg.
Proc. Natl. Acad. Sci. U.S. 38 455-463.

7 - BROWAEYS J. 1943

Micromanipulateur à pantographe pour le travail microscopi-
que à un grossissement limité.
Thèse Fac. Med. Paris 1943 42 p.

8 - CAILLOUX M. 1943

Un nouveau micromanipulateur hydraulique
Rev. Can. Biol. 2 (5) 528.

9 - CARLSON J.G. 1952

Microdissection studies of the dividing neuroblast of the
grasshopper chortophage viridifasciata (de Geer)
Chromosoma 5 199-220

VII

10 - CARLSON J.G. and GAULDEN M.E. 1964

Grasshopper Neurblast techniques.

In : Méthods in cell physiology D.M. Prescott Ed. Acad.
Press N. Y.

11 - CHABRY L. 1886

Tube capillaire porte objet et perforation des éléments
cellulaires.

C.R. Soc. Biol. 2 322-323.

12 - CHAMBERS R. 1918

The microvivisection method.

Biol. Bul. 34 121

13 - CHAMBERS R. 1920

Dissection and injection studies on the amoeba

Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 18 6

14 - CHAMBERS R. 1921 a

A simple apparatus for micromanipulation under the highest
magnifications of the microscope

Sc. N.S. 54 411

15 - CHAMBERS R. 1922

New apparatus and methods for the dissection and injection
of living cells.

Anat. Rec. 24 (I) 1-19

15^b - CHAMBERS R. 1940

The micromanipulation of living cells

Amer. Assoc. Advance Sci. publ. 14 20

16 - CHAMBERS R. 1943

Electrolytic solutions compatible with the maintenance
of protoplasmic structure

Biol. Symposia 10 91

17 - CHAMBERS R. 1949

Micrurgical studies on protoplasm.

Biol. Rev. 24 246

18 - CHAMBERS R. and KOPAC M.J. 1937

The coalescence of sea urchin eggs with oil drops.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 50 870-909

19 - CHAMBERS R. and KOPAC M.J. 1950

Micrurgical technique for the study of cellular phenomena
in : Mc Clung's Handbook of microscopical technique
p. 492 (3e ed. N.Y.)

20 - CHAMBERS R. and REZNIKOFF P. 1926

Micrurgical studies in cell biology I : The action of
chlorides of Na, K, Ca and Mg on the protoplasm of
Amoeba Proteus.
J. Gen. Physiol. 8 369-402.

21 - COHEN CHAMBERS R. and REZNIKOFF P. 1928

J. Gen. Physiol. 11 585

22 - COMANDON J. et De FONBRUNE P. 1934

Fabrication simplifiée de micro-instruments : Scalpels
de verre et électrodes métalliques isolées.
C.R. Soc. Biol. 116 1351-1353.

23 - COMANDON J. et De FONBRUNE P. 1934

Etude expérimentale de la division cellulaire. Nouvel
enregistrement cinématographique.
C.R. Soc. Biol. 117 975

24 - COMANDON et De FONBRUNE P. 1936

Amibe mycophage, enregistrement cinématographique
C.R. Soc. Biol. 123 1169-1170

25 - COMANDON et De FONBRUNE P. 1936

Mécanisme de l'ingestion d'oscillaires par des amibes
C.R. Soc. Biol. 123 1170-1172

26 - COMANDON J. et de FONBRUNE P. 1936

Ingestion et digestion de bacilles par une amibe : Amoeba
Phagocytoïdes (Gauducheau).
C.R. Soc. Biol. 123 1072-1074 + film

27 - COMANDON J. et de FONBRUNE P. 1937

Observation in vivo de la caryocinèse d'une amibe Acanthamoeba (enregistrement cinématographique).
C.R. Soc. Biol. 124 1299-1302.

28 - COMANDON J. et de FONBRUNE P. 1938

La chambre à huile
Ann. Inst. Pasteur 60 113

29 - CROCKER T.T. and EASTWOOD J.M. 1963

Subcellular cultivation of a virus : Growth of Ornithosis virus in nonnucleate cytoplasm.
Virology 19 23-31

29 - CROCKER T.T. and GOLDSTEIN L. 1958

Nuclear-cytoplasmic relationships in human cells in tissue culture I : Instrumentation for micromanipulation and cinematographie.
Mikroskopie 12 315-322.

30 - DANIELS E.W. 1962

Limits of transplantation tolerance in large amoeba I :
Microfusion studies using Amoeba Proteus, Pelomyxa Illinoisensis and strains of Pelomyxa, Carolinensis.
J. Protozool. 9 183-187

31 - DELAFIELD DU BOIS 1931

A machine for pulling micropipettes and needles
Science N.S. 73 345

32 - DOSSEL W.E. 1966

Preparation of tungstene microneedles with a propane torch.
Stain Technol. 41 161-43

33 - DUNN F.L. 1927

Use of hydraulic devices for obtaining micromanipulation
J. of Inf. Diseases 40 383

34 - ELLIS G.W. 1962

Piezoelectric micromanipulators (electrically operated micromanipulators add automatic high speed movement to normal manual control)
Science 138 84-91

35 - FITZ G.W. 1934

A special micromanipulator
Am. J. Physiol. 109 1:36

36 - FLORIAN J. 1928

Ein Hebelmikromanipulator
Z. Wiss. Mikroskop 45 460-471

37 - FONBRUNE P. de 1932

Nouveau micromanipulateur et dispositif pour la fabrication des micro-instruments
C.R. Acad. Sci. 195 603-604

38 - FONBRUNE P. de 1932

Nouveau micromanipulateur et dispositif pour la fabrication des micro-instruments.
Recherches et inventions 218, 299-309

39 - FONBRUNE P. de 1934

Demonstration d'un micromanipulateur pneumatique et d'un appareil pour la fabrication des micro-instruments sous le microscope.
Ann. Physiol. et physico-chim. Biol. 10 4 : 859-861

40 - FONBRUNE P. de 1935

Nouvelles techniques de micromanipulation
Recherches et inventions 252 247

41 - FONBRUNE P. de 1936

Un nouveau micromanipulateur.
Bull. Soc. Fse de Photographie 23 6 : 139

42 - FONBRUNE P. de 1937

Micromanipulateur pneumatique et microforge pour
la fabrication des micro-instruments.
Recherches et inventions 1 décembre 1937

43 - FONBRUNE P. de 1938

La micromanipulation et le problème des micro-instruments de
verre.
Doc. Scientifique (Sté PYREX) 66

44 - FONBRUNE P. de 1941

La cytochirurgie et ses moyens techniques
J. de Médecine de Bordeaux et du S.O. n.° 90.216 825-837

45 - FONBRUNE P. de 1949

Technique de micromanipulation
Monographies de l'institut Pasteur Masson Ed.

46 - FONBRUNE P. de 1962

Techniques générales du laboratoire de physique
2 Ch. 13 C.N.R.S. Ed.

47 - FONBRUNE P. de et REULARD P. 1963

Etude cinématographique des effets cytopathogènes du
virus de Rubarth en "microcultures" cellulaires spéciales.
Ann. Inst. Pasteur 104 335-346.

48 - FRENSTER J.H., ALLFREY V.G. and MIRSKY A.E. 1960

Proc. Natl. Acad. Sci. U.S. 45 432

49 - GILBERT P.T. Jr 1951

Silicone water repellents for general use in the laboratory
Science 114 637-640

50 - GOLDSTEIN L. 1964

Nuclear transplantation in Amoeba
In : Methods in cell physiol. I Ch. 6 97-108
D.M. Prescott Ed. N.Y.

51 - GOLDSTEIN L. and EASTWOOD J.M. 1964

Micrurgy in tissue culture cells.
In : Methods in cell physiol. I 403-416 D.M. Prescott
Ed. N.Y.

52 - HAUSER E.A. 1930

Etude sur la technique des micromanipulations
Rev. générale des colloïdes 8 358-361

53 - HECKER F. 1916

A new model of a double pipet holder and the technic for the
isolation of living organisms.
J. of infectious diseases 19 306

54 - HOADLEY L. 1934

A device for micromanipulation
S.cience 80 338-339

55 - JEON K.W. 1967

A modified oil chamber for micrurgy on large cells.
Exptl. Cell. Res. 46 609-610

56 - KASSEL R. and KOPAC M.J. 1953

Expériemental approaches to the evaluation of fractionation
media I : the action of ions on the protoplasm of Amoeba
proteus and Pelomyxa Carolinensis.
J. exptl. Zool. 124 279-301

57 - KASSEL R. and KOPAC M.J. 1954

Experimental approaches to the evaluation of fractionation
media II : The effect of various added substances ou Amoeba
cytoplasm.
J. Exptl. Zool. 126 497-510

58 - KOHEN E., LEGALLAIS V. and KOHEN C. 1966

An introduction to microelectrophoresis and microinjection
techniques in microfluorimetry.
Exptl. Cell. Res. 41 223-226

59 - KOPAC M.J. 1950 a

The surface chemical properties of cytoplasmic proteins
Ann. N.Y. Acad. Sci. 50 870-909

60 - KOPAC M.J. 1953

Submicro methods in enzymatic cytochemistry.
Trans. N.Y. Acad. Sci. 15 (2) 290-297

61 - KOPAC M.J. 1955 a

Recent developments in cellular micrurgy
Trans. N.Y. Acad. Sci. 17 (3) 257-265

62 - KOPAC M.J. 1955 h

Cytochemical micrurgy
Intern. Rev. Cytol. 1-29

63 - KOPAC M.J. 1955 c

Trans. N.Y. Acad. Sci. 18 -(2) 22
Cytochemistry its problems and instrumentations

64 - KOPAC M.J. 1956 b

Instrumentation for the transplantation of nucleoli
J. Franklin inst. 262 407

65 - KOPAC M.J. and HARRIS J. 1951

A new micromanipulator with volumetric ultramicropipettes
Anat. Record 111 116

66 - KROEGER H. 1966

Micrurgy on cells with polytene chromosomes
In : Methods in cell physiol. D.M. Prescott Ed. 2 61-92

67 - LANGERON M. 1949

Micromanipulateurs
Précis de microscopie 7e éd. 310-326 Masson Ed.

68 - LAUCHE A. 1929

Über eine Glaskammer zu mikrurgischen Arbeiten an Gewebelskulturen und anderen Objekten unter Einwirkung von Flüssigkeiten verschiedenster Temperatur und Zusammensetzung.

Z. Wiss. Mikroskop. 46 (3) 382-385 ;

69 - MAZIA D. and RUBY A. 1967

A chamber for the prolonged observation of cells under compression.

Exptl. Cell Res. 45 505-506

70 - MORICARD et FONBRUNE P. de 1937

Nouvelles techniques d'études in vitro des mitoses de maturation de l'ovule des mammifères , cas de segmentations parthénogénétiques

C.R. Acad. Sci. 204 , 999-1001.

71 - MUNRO T.R. 1960

A technique that permits micromanipulation and long term study of single Hela cells and their progeny.

Exptl. Cell. Res. 19 291-298.

72 - POLICARD A., BESSIS M. et LOCQUIN M. - 1957

Micromanipulation

In : traité de microscopie 509-517 Masson Ed.

73 - PORTER K.R. 1939

Biol. Bul. 77 233

74 - PRENANT M. 1967

Problèmes concernant les micro-injections et les greffes nucléaires (Nouvelles approches techniques en vue de réaliser des greffes nucléaires et des micro-injections dans les cellules en cultures).

Diplôme E.P.H.E.

75 - PRESCOTT D.M. and CARRIER R.F. 1964

Experimental procedures and cultural methods for euplates eurytostomus and Amoeba Proteus.

In : Methods in cell physiol. D.M. Prescott Ed. N.Y. I 85-95.

- 76 - PRESCOTT D.M. , RAO M.V.N., EVENSON D.P., STONE G.E.,
THRASHER J.D. 1966

Isolation of single nuclei and mass preparations of nuclei
from several cell types.

in : Methods in cell ohysiol. D.M. Prescott Ed. 2 131-142

- 77 - RANKE O., 1928

Spannungsmessung am Mikromanipulator

Z. Wiss. Mikrosk. 45 (I) 67-69

- 78 - REYNIERS J.A. 1932

A new and simplified micrurgical apparatus especially
adapted to single cell isolation

J. Bact. 23 (2) 183-192

- 79 - REYNIERS J.A. 1933

Studies in micrurgical technique I, IV

J. Bact. 26 (3) 251-287

- 80 - REYNIERS J.A. 1934

A micropipette adapter

Science 80, 481-482

- 81 - RICHARDS A.N. 1930

A simple instrument for micromanipulation

J. Biol. Chem. 87 (3) 463-466

- 82 - SEIFRIZ W. 1927

New material for microdissection

Protoplasma 3 191

- 83 - SEIFRIZ W. 1936

Micrurgy

In : Protoplasm Mc Graw Hill N.Y. 47-64.

- 84 - TARTAR V. 1961 a

The biology of stentor

The biol. of st. Pergamon press N.Y.

85 - TAYLOR C.V. 1925

Microelectrodes and micromagnets
Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 23, 147

86 - TCHAKOTINE S. 1937

Sur un dispositif (goutte d'eau dans un liquide non miscible)
pour les recherches d'embryologie et de cytologie expérimentales.
C.R. Acad. Sci. 205 1182-1184

87 - TRIPP H.D. 1929

A felling device for micropipettes
J. Lab. Clin. Med. 14 -(9) 885-886

88 - WHITAKER D.M. 1929

Microthermocouples
Science 70 263

89 - WIGHTON D.C. 1966

A plexiglass isolation chamber for use with the Fonbrune
micromanipulator.
Stain technology 41 (2) 139-140

90 - WRIGHT W.H. 1929

Convenient case for sterilising and storing micropipettes
J. Bact. 17 (1) 10

91 - WURMSER R. et RAPKINE L. 1931

Procédé de microinjection quantitative
C.R. Acad. Sci. 193 430-432.

III - RELATIONS NUCLEO-CYTOPLASMIQUES ET HEREDITE CELLULAIRE

=====

1 - BARBER M.A. 1914

The pipette method in the isolation of single microorganisms and in the inoculation of substances into living cells.
The Philippine J. of Science 9 308-338

2 - BRACHET J. 1952

The role of the nucleus and the cytoplasm in synthesis and morphogenesis. Symposia of the society Exp. of cell Biol.
6 173 - 200

3 - BRACHET J. 1954

Le noyau et les activités enzymatiques de la cellule.
Gazeta Medica portuguesa 7 (1) 206-212

4 - BRACHET J. 1955

Action of ribonuclease and ribonucleic acid on living amoebae
Nature 175 851-853

5 - BRACHET J. 1955

Recherches sur les interactions biochimiques entre le noyau et le cytoplasme chez les organismes unicellulaires
Biochim. Biophys. Acta 18 247-268.

6 - BRACHET J. 1959

Cytoplasmic dependance in Amoebae
Ann. N.Y. Acad. Sci. 78 688-695.

7 - BRIGGS R. and KING T.J. 1952

Transplantation of living nuclei from bladtula cells into enucleated frog's egg.
Proc. Natl. Acad. Sci. U.S. 38 455-463.

8 - BRIGGS R. and KING T.J. 1953

Factors affecting the transplantability of nuclei of frog embryonic cells.
J. Exptl. Zool. 122 485-503

9 - BRIGGS R. and KING T.J. 1955

Specificity of nuclear function in embryonic development
In : Biological specificity and growth E.C. Butler Ed.
207 Princeton Univ. Press.

10 - BRIGGS R. and KING T.J. 1957

Changes in the nuclei of differentiating endoderm cells
as revealed by nuclear transplantation
J. Morphol. 100 269-301

11 - BRIGGS R. and KING T.J. 1959

Nucleocytoplasmic interactions in eggs and embryos
in : The cell 1 ch. 13 537-617 Acad. Press. N.Y.

12 - BYERS T.J., PLATT D.B. and GOLDSTEIN L. 1963a

The cytonucleoproteins of Amoebae I : Some chemical
properties and intracellular distribution.
J. of cell. Biol. 19, 456-466

13 - BYERS T.J., PLATT D.B. and GOLDSTEIN L. 1963 b

The cytonucleoproteins of Amoebae II : Some aspects of
cytonucleoproteins behavior and synthesis
J. of cell Biol. 19 467-475

14 - CHAMBERS R. and CHAMBERS E.L. 1940

Interrelations between egg-nucleus and cytoplasm of cells
and cell fragments.
Biol. Bul. 79 340

15 - COLE R.J. and DANIELLI J.F. 1963

Nuclear-cytoplasmic interactions in the responses of
Amoeba discoïdes to streptomycin.
Exptl. Cell. Res. 29 199-210

16 - COMANDON J. et FONBRUNE P. de 1939a

Ablation du noyau chez une amibe. Réaction cinétique à
la piqure de l'amibe normale et dénucléée.
C.R. Soc. Biol. 130, 740-744.

17 - COMANDON J. et FONBRUNE P. de 1939 b

Greffe nucléaire totale, simple ou multiple chez une amibe.

C.R. Soc. Biol. 130, 744-748

18 - COMANDON J. et FONBRUNE P. de 1942 a

Action de la colchicine sur l'amoebe sphaeronucleus
Obtention de variétés géantes.

C.R. Soc. Biol. 136 410

19 - COMANDON J. et FONBRUNE P. de 1942b

Etude volumétrique comparative d'amoebe sphaeronucleus et de deux variétés obtenues par l'action de la colchicine.

C.R. Soc. Biol. 136, 423

20 - COMANDON J. et FONBRUNE P. de 1942c

Anomalies de la division observées à partir de noyaux atypiques chez Amoeba sphaeronucleus et ses variétés colchiciniques.

C.R. Soc. Biol. 136 460-461

21 - COMANDON J. et FONBRUNE P. de 1942 d

Greffes nucléaires croisées entre Amoeba sphaeronucleus et l'une de ses variétés colchiciniques.

C.R. Soc. Biol. 136 746-747

22 - COMANDON J. et FONBRUNE P. de 1942 e

Modifications héréditaires de volume provoquées par l'échange du noyau entre Amoeba sphaeronucleus et ses variétés colchiciniques.

C.R. Soc. Biol. 136 747-748

23 - COMANDON J. et FONBRUNE P. de 1942 f

Influence des stades évolutifs du cytoplasme et du noyau greffé d'Amoeba sphaeronucleus sur leurs volumes respectifs et sur le déclenchement de la caryocinèse.

C.R. Soc. Biol. 136 763-764

24 - DANIELLI J.F. 1952

on transplanting nuclei
Sci. American 186 (4) 58-64

25 - DANIELLI J.F. 1955

The transfer of nuclei from cell to cell as a method of
studying differenciation
Exptl. cell Res. Suppl. 3 98-101

26 - DANIELLI J.F. 1958

The relationship between nucleus and cytoplasm (some theo-
retical aspects of nucleocytoplasmic relationships)
Exptl. cell. Res. Suppl. 6 252-267.

27 - DANIELLI J.F. 1958

Studies of inheritance in Amoebae by the technique of
nuclear transfer.
Proc. Roy. Soc. B 148 321-331.

28 - DANIELLI J.F. 1959

The cell to cell transfer of nuclei in Amoebae and a
comprehensive cell theory
Ann. N.Y. Acad. Sci. 78 675-687.

29 - DANIELLI J.F. 1962

The theory of cells in relation to the study of cytoplasmic
inheritance in Amoebae by nuclear transfer.
The Harvey Lecture série 58 Acad. Press. N.Y. 217-231

30 - DANIELLI J.F. LORCH I.J., ORD M.J., WILSON E.G. 1955

Nucleus and cytoplasm in cellular inheritance
Nature 176 1114-1115

31 - DANIELLI J.F. and MUGGLETON A. 1959

Some alternative states of Amoeba with special reference to
life span.
Gerontologia J. 3 76-90.

32 - DANIELS E.W. 1951

Studies on the effect of X irradiation upon *Pelomyxa Carolinensis* with special reference to nuclear division and plasmatotomy.

J. Exptl. Zool. 117 189-210

33 - DANIELS E.W. 1960

Survival and cell division of *Amoeba* following the micro-injection of homologous and other protoplasm.

Anat. Record 137, 348 abstr.

34 - EDSTROM J.E. 1953 b

Quantitative determination of ribonucleic acid from individual nerve cell.

Bioch. et Bioph. acta 11 300-301.

35 - EDSTROM J.E. 1953 c

Ribonucleic acid mass and concentration in individual nerve cells : a new method for quantitative determination

Biochem et Bioph. acta 12 361-386.

36 - GOLDSTEIN L. , CAILLEAU R. and CROCKER T.T. 1960

Nuclear cytoplasmic relationships in human cells in tissue culture II : The microscopic behavior of enucleate human cell fragments

Exptl. cell. Res. 19 332-342.

37 - GOLDSTEIN L. and JELINCK W. 1966

A comparison of the movement of enucleate fragments from interphase and mitotic *Amoebae*.

Exptl. cell Res. 43 51-55

38 - GOLDSTEIN and PLAUT W. 1955

Direct evidence for nuclear synthesis of cytoplasmic RNA

Proc. Natl. Acad. Sci. U.S. 41 874-880

39 - HAWKINS S.E. and COLE R.J. 1965

Studies on the basis of cytoplasmic inheritance in *Amoebae*.

Exptl. cell Res. 37 26-38.

- 40 - HAWKINS S.E. , COLE R.J. and DANIELLI J.F. 1962

Preliminary studies on the basis of cytoplasmic inheritance in Ameebae
Nature 196 396

- 41 - HAWKINS S.E. and DANIELLI J.F. 1961

Investigation of free amino acid differences in Amoebae
Exptl. cell Res. 23 504-509

- 42 - JEON K.W. LORCH I.J., MORAN J.F., MUGGLETON A. and DANIELLI 1967

Cytoplasmic inheritance in Amoebae: modification of response to antiserum by microinjection of heterologous cytoplasmic homogenates,
Exptl. Cell. Res. 46 615-619.

- 43 - KING T.J. 1966

Nuclear transplantation in amphibia
In : Methods in cell physiol.
DM Prescott Ed. 2 1-36

- 44 - KING T.J. and BRIGGS R. 1953

The transplantability of nuclei of arrested hybrid blastulae
(*R. Pipiens* ♀ x *R. Castebiana* ♂)
J. Exptl. Zool. 123 61-78

- 45 - KING T.J. and BRIGGS R. 1954

Transplantation of living nuclei of late gastrulae into enucleated eggs of *Rana Pipiens*.
J. Embryol. Exptl. Morphol. 2 73-80.

- 46 - KING T.J. and BRIGGS R. 1955

Changes in the nuclei of differentiating gastrula cells, as demonstrated by nuclear transplantation.
Proc. Natl. Acad. Sci. U.S. 41 321-325.

- 47 - KING T.J. and BRIGGS R. 1956

Serial transplantation of embryonic nuclei
Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol 21 271 -290

48 - KOPAC M.J. 1956 a

Topological cytochemistry
Ann. N.Y. Acad. Sci. 63 1219-1235

49 - KOPAC M.J. 1957

Transplantation of subcellular particles by micrurgy
Ann. N.Y. Acad. Sci. 68, 380-393

50 - KOPAC M.J. 1959

Micrurgical studies on living cells
In : the cell I ch. 6 161-191

51 - KOPAC M.J. 1960

Expérimental studies on malignant nucleoli
Cell. physiol. of neoplasia Univ. of Texas Press Austin
Texas 97-128.

52 - KOPAC M.J. 1960

Exploring living cells by microsurgery
N.Y. Acad. of Sci. 143 rd Annual Dinner

53 - KOPAC M.J. and MATEYKO G.M. 1958

Malignant nucleoli : cytological studies and perspectives
Ann. N.Y. Acad. Sci. 73 237-282

54 - LORCH I.J. and DANIELLI J.F. 1950

Transplantation of nuclei from cell to cell.
Nature 166 329-330.

55 - LORCH I.J. and DANIELLI J.F. 1953

Nuclear transplantation in Amoebae I : (Some species
characters of Amoeba Proteus and Amoeba Discoïdes).
Quart. J. of microscop. Sci. 94 Part. 4 445-460

56 - LORCH I.J. and DANIELLI J.F. 1953

Nuclear transplantation in Amoebae II : (the immediate
Results of transfer of nuclei between Amoeba Proteus
and Amoeba Discoïdes)
Quart. J. of Microscop. Sci. 94 Part. 4 461-480

- 57 - MUGGLETON A. and DANIELLI J.F.

Sous presse en juin 1967
Exptl cell Res.

- 58 - OKADA Y.K. 1930

Arch. Protistenk 69 39.

- 59 ORD M.J. 1956

The site of damage in amoebae exposed to low concentrations of methyl di beta chlorethyl amine (a nitrogen mustard)
Quart. J. Microscop. Sci. 97 39-45

- 60 - ORD M.J. 1965

Effect of N methyl N nitroso urethane on Amoebae
Nature 206 413-414

- 61 - ORD M.J. and DANIELLI J.F. 1956 a

The site of damage in amoebae exposed to lethal concentrations of methyl di beta chlorethyl amine (a nitrogen mustard)
Quart. J. Microscop. Sci. 97 17-28.

- 62 - ORD M.J. and DANIELLI J.F. 1956 b

The site of damage in amoebae exposed to X rays.
Quart. J. Microscop. Sci. 97 29-37

- 63 - PRESCOTT D.M. and GOLDSTEIN L. 1967

Nuclear cytoplasmic interaction in DNA synthesis
Science 155 469-471

- 64 - RABINOVITCH M. and PLAUT W. 1962

Cytoplasmic DNA synthesis in Amoeba Proteus I : On the particulate nature of DNA containing elements.
J. cell Biol. 15 525-534.

- 65 - RABINOVITCH M. and PLAUT W. 1962

Cytoplasmic DNA synthesis in Amoeba proteus II : on the behavior and possible nature of the DNA containing éléments.
J. cell Biol. 15 535-540.

66 - SKREB Y. et EGER M. 1967

Effet restaurateur d'une basse température sur la survie,
le taux du RNA et des protéines sur des amibes irradiées
C.R. Acad. Sci. 264 477-480

67 - SKREB Y. and HORVAT D. 1966

Influence of gamma-radiation on the incorporation of ^{14}C -
Adénine and ^{14}C -Phényl-alanine into whole Amoebae and
nucleate and anucleate Amoeba fragments.
Exptl. cell Res. 43 639-644

68 - SKREB Y. et HORVAT D. 1967

Interactions de l'actinomycine D et de l'irradiation gamma
chez les amibes.
C.R. Acad. Sci. 264 340-343.

69 - TARTAR V. 1964

Experimental techniques with ciliates
In methods in cell Physiol. I 109-125 D.M. Prescott Ed.

70 - TAYLOR C.V. and FARBER W.P. 1924

Fatal effects of the removal of the micronucleus in Euplotes
Univ. of California Publ. in Zool. 26 131-141

71 - WILSON E.G. 1957

Thesis (Ph. D) Univ. of London.

72 - WOLSTENHOLME 1966

Cytoplasmic DNA containing bodies in Amoeba
Nature 211 652-653.

IV - CONSTANTES PHYSICO-CHIMIQUES DE LA CELLULE

1 - CHAMBERS R. 1914

Some physical properties of the cell nucleus
Science 40 824-827

2 - CHAMBERS R. 1915

Microdissection studies on the germ cell.
Science 41 290

3 - CHAMBERS R. 1917

Microdissection studies
Am. J. Physiol. 43 1

4 - CHAMBERS R. 1917

Microdissection studies II : the cell aster : A reversible
gelation phenomenon.
J. exptl. Zool. 23 483

5 - CHAMBERS R. 1924

Etude de microdissection IV : Les structures mitochondriales
et nucléaires dans les cellules germinales mâles chez les
sauterelles.
La cellule 35 107-124

6 - CHAMBERS R. 1924

The physical structure of protoplasm as determined by
microdissection and injection.
In : General cytology Sect 5 p. 237-309 Univ. Chicago Press.

7 - CHAMBERS R. 1950

The cell as a functional body.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 50 817-823

8 - CHAMBERS R. 1951

Micrurgical studies on the Kinetic aspects of cell division
Ann. N.Y. Acad. Sci. 51 1311-1326

9 - CHAMBERS R. and POLLACK H. 1927

Micrurgical studies in cell physiology IV : colorimetric determination of the nuclear and cytoplasmic pH in the starfish egg.

J. Gen. Physiol. 10 739

10 - CHAMBERS R. and FELL H. B. 1931

Micro-opérations on cells in tissue culture.

Proc. Roy. Soc. London 109 380-403.

11 - CHAMBERS R. and HOFER K. 1931

Micrurgical studies on the tonoplast of allium cepa

Protoplasma 12 338

12 - CHAMBERS R., KOPAC M. J. and GRAND C. G. 1937

The living cell physical properties of and microchemical reactions.

Industrial and Engineering Chemistry 9 143-145.

13 - CHAMBERS R. and LUDFORD R. J. 1932

Microdissection studies on malignant and non malignant tissue cells.

Arch. für Exptl. Zellforsch. Band 12 555-569

14 - CHAMBERS R. and RENYI G. de 1925

The structure of the cells in tissues as revealed by microdissection I : The physical relationships of the cells in Epithelia.

Amer. J. Anat. 35 385

15 - CHAMBERS R. and REZNIKOFF P. 1926

Micrurgical studies in cell physiology I : The action of chlorides of Na K Ca and Mg on the protoplasm of Amoeba Proteus.

J. Gen. Physiol. 8 369-402

16 - COMANDON J. et FONBRUNE P. de 1939 a

ablation du noyau chez une amibe. Réactions cinétiques à la piqure de l'amibe normale et dénucléée

C.R. Soc. Biol. 130 740-744

17 - CROCKER T.C., GOLDSTEIN L. et CAILLEAU R. 1966

Survival of enucleate cytoplasm of human cells in tissue culture.

Science 124 935 Abstr.

18 - DAN K. 1943

Behavior of the cell surface during cleavage V: perforation experiment.

J. Fac. Sci. Tokyo Imp. Univ. Ser. IV 6 297

19 - KOPAC M.J. 1940

The physical properties of the extraneous coats of living cells
Cold spring harbor symposia Quant. Biol. 8 154

20 - KOPAC M.J. 1943

Micrurgical application of surface chemistry to the study of living cells.

In : Micrurgical and germ-free methods (Reyniers Ed) p. 26

21 - KOPAC M.J. 1950 a

The surface chemical properties of cytoplasmic proteins
Ann. N.Y. Acad. Sci. 50 870-909

22 - KOPAC M.J. 1950 b

Microsurgery the développement of the micro-manipulator makes it possible to perform operations upon individual cells without killing them.

Scientific American Oct. 1950 48-52

23 - LEPESCHKIN W. 1927

Mechanischen und chemischen Schädigungen des Protoplasmas
Protoplasma 2 239

24 - LOREY E. 1929

Mikrochirurgische Untersuchungen über die Viskosität des Protoplasmas.

Protoplasma 7 171

- 25 - MITCHISON J.M. and SWANN M.M. 1954

The mechanical properties of the cell surface
J. Exptl. Biol. 31 443

- 26 - MUNRO T.R. and DANIEL M.R. 1965

Effects of microoperations on the morphology survival
and lysosomes of chinese Hamster fibroblasts.
Exptl. cell. Res. 38

- 27 - SEIFRIZ W. 1921

Physical properties of protoplasm.
Ann. Botany London 35 269

- 28 - SEIFRIZ W. 1924

Brit. J. Exptl. Biol. 2 1

- 29 - SEIFRIZ W. 1926

Physical properties of erythrocytes
Protoplasma 1 345

- 30 - SEIFRIZ W. 1947

The properties of protoplasm with special reference to the
influence of enzymic reactions.
Interscience Publishers 7 35-64.

- 31 - TYLERA MONROY A. KAO C.Y. and GRUNDFEST H. 1956

Membrane potential and resistance of the starfish egg
before and after fertilization.
Biol. Bul. 111 153

- 32 - WURMSER R. et RAPKINE L. 1931

Procédé de microinjection quantitative
C.R. Acad. Sci. 193 430-432

- 33 - ZOBEL H.L. 1933

The indicator method for measuring oxydation-réduction poten-
tiels in algae.
Thesis Univ. Chicago 1933.

V - EMBRYOLOGIE

1 - BRIGGS R. and KING T.J. 1952

Transplantation of living nuclei from blastula cells into enucleated frog's egg.

Proc. Natl. Acad. Sci. U.S. 38 455-463

2 - BRIGGS R. and KING T.J. 1953

Factors affecting the transplantability of nuclei of frog embryonic cells.

J. Exptl. Zool 122 485-503

3 - BRIGGS R. and KING T.J. 1955

Specificity of nuclear function in embryonic development
In : Biological specificity and growth p. 207 Butler Ed :
Princeton Univ. Press.

4 - BRIGGS R. and KING T.J. 1957

Changes in the nuclei of differentiating endoderm cells as revealed by nuclear transplantation

J. Morphol. 100 269-301

5 - BRIGGS R. and KING T.J. 1959

Nucleocytoplasmic interactions in eggs and embryos
In : The cell 1 chap. 13 537-617 Acad. Press. N.Y.

6 - BRIGGS R., SIGNORET J. and HUMPHREY R.R. 1964

Transplantation of nuclei of various cell types from neurulae of the mexican Axolotl (Amblystoma Mexicanum)
Develop. Biol. 10 233.

7 - CHAMBERS R. 1921

Microdissection studies III : Some problems in the maturation and fertilization of echinoderm egg.

Biol. Bul. 41 318.

8 - DURYEE W.R. 1937

Isolation of nuclei and non-mitotic chromosome pairs from frog eggs.

Arch. Exptl. Zellf. 19 171-176.

- 9 - ELSDALE T.R. , FISCHBERG M. and SMITH S. 1958

A mutation that reduces nucleolar number in *Xenopus Laevis*.

Exptl. cell Res. 14 642-643.

- 10 - GURDON J.B. 1964

Advan. Morphogenesis 4 1

- 11 - HARVEY E.B. 1936

Biol. Bul. 71 101

- 12 - HOSTRADIUS S., LORCH I.J. and DANIELLI J.F. 1953

The effect of enucleation on the development of sea urchin eggs II : Enucleation of animal or vegetal halves.

Exptl. cell Res. 4 263-274.

- 13 - KING T.J. 1966

Nuclear transplantation in Amphibia.

In : Methods in cell Physiol. DM Prescott Ed. 2 1-36

- 14 - KING T.J. and BRIGGS R. 1953

The transplantability of nuclei of arrested hybrid blastulae

(*R. Pipiens* ♀ *R. Catesbiana* ♂)

J. Exptl. Zool. 123 61-78

- 15 - KING T.J. and BRIGGS R. 1954

Transplantation of living nuclei of late gastrulae into enucleated eggs of *Rana pipiens*.

J. Embryol. Exptl. Morphol. 2 73-80 1954.

- 16 - KING T.J. and BRIGGS R. 1955

Changes in the nuclei of differentiating gastrula cells, as demonstrated by nuclear transplantation.

Proc. Natl. Acad. Sci. U.S. 41 321-325

- 17 - KING T.J. and BRIGGS R. 1956

Serial transplantation of embryonic nuclei

Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol. 21 271-290

- 18 - LORCH I.J., DANIELLI J.F. and HOSTRADIUS S. 1953

The effect of enucleation on the development of sea urchin eggs I : Enucleation of one cell at the 2, 4 or 8 cell stage.
Exptl. cell Res. 4 253-262.

- 19 - MOORE J.A. 1946

J. Exptl. Zool. 101 173

- 20 - MOORE J.A. 1958

Transplantation of nuclei between Rana Pipiens and Rana Sylvatica.
Exptl. cell Res. 14 532-540

- 21 - MORICARD et FONBRUNE P. de 1937

Nouvelles techniques d'études in vitro des mitoses de maturation de l'ovule des mammifères, cas de segmentation parthénogénétique.
C.R. Acad. Sci. 204 999-1001

- 22 - PORTER K.R. 1939

Biol. Bul. 77 233

- 23 - SIGNORET J., BRIGGS R. and HUMPHREY R.R. 1962

Nuclear transplantation in the Axolotl
Develop. Biol. 4 134.

- 24 - SUBTELNY S.S. and MAC LOUGHLIN C. 1956

Anat. Record 125 (3) 623 Abstr.

- 25 - WOLF E. 1966

Les transplantations de noyaux et les fécondations hétérogènes.
In : Biologie générale Masson Ed. 718-732.

VI - MITOSES ET CHROMOSOMES

=====

1 - BARIGOZZI C. 1938

Esperienze di microdissezione sui cromosoni salivari di
Chironomus S.P.

Arch. Exptl. Zellforsch. Gewebezücht. 22 190-195

2 - BUCK J.B. 1942

Micromanipulation of salivary gland chromosomes.
J. Heredity 33 3-10

3 - CHAMBERS R. 1951

Micrurgical studies on the kinetic aspects of cell division
Ann. N.Y. Acad. Sci. 51 1311-1326

4 - CHAMBERS R. and SANDS H.C. 1923

A dissection of the chromosomes in the pollen mother
cells of Tradescantia Virginica.
J. Gen. Physiol. 5 815-821.

5 - D'ANGELO E.G. 1946

Micrurgical studies on chironomus salivary gland chromosomes
Biol. Bul. 90 71-87

6 - D'ANGELO E.G. 1950

Salivary gland chromosomes
Ann. N.Y. Acad. Sci. 50 910-919

7 - DURYEE W.R. 1950

Chromosomal physiology in relation to nuclear structures.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 50 920-953

8 - GLANCY E.A. 1940

Micromanipulation studies on the nuclear matrix of chirono-
mous salivary glands.
Biol. Bul. 79 372-373

9 - KOPAC M.J. 1960

Exploring living cells by microsurgery
N.Y. Acad. of Sci. 143 rd Annual dinner I-XII-1960

10 - KOPAC M.J. 1964

Structure and microsurgery of chromosomes.
Expanding goals of genetics in psychiatry Grune and
Stratton N.Y. 16 63-80

11 - KROEGER H. 1966

Potentialdifferenz und Puff-Muster ; Electrophysiologische
und Cytologische Untersuchungen an den Speicheldrüsen von
Chironomus Thummi.
Exptl. Cell. Res. 41 64-80

12 - KROEGER H. 1966

Micrurgy on cells with polytene chromosomes
In : Methods in cell Physiol. 2 61-92 D. M. Prescott Ed.

13 - LEZZI M. 1965

Die Wirkung von DNase auf isolierte Polytänchromosomen
Exptl. cell Res. 39 289-292

14 - LEZZI M. 1966

Induktion eines Ecdyson - aktivierbaren Puff in isolierten
Zellkernen von chironomus durch KCl
Exptl Cell Res. 43 571-577

15 - LEZZI M. und KROEGER H. 1966

Z. Naturforsch 21 274

16 - MORICARD R. et FONBRUNE P. de 1937

Nouvelles techniques d'études in vitro des mitoses de matura-
tion de l'ovule des mammifères, cas de segmentation parthe-
nogénétique.
C.R. Acad. Sci. 204 999-1001

17 - NICKLAS R.B. and STAEHLY C.A. 1967

Chromosome micromanipulation I : The mecanics of
chromosome attachment to the spindle,
Chromosoma 21 1-16

18 - NICKLAS R.B. 1967

Chromosome micromanipulation II : Induced reorientation
and the experimental control of segregation in meiosis.
Chromosoma 21 17-50

19 - PFEIFFER H.H. 1940

Mikrurgische Versuche in Polarisaierten Lichte zur Analyse de
Feinbaues der reisenchromosomen von Chironomous.
Zeits. Zellf. u. Mikrosk. Anat. Abteil. B. : chromosoma
Zeits. Zellker. Chr. Forsch. 1 526-536.

20 - STEFANELLI A. 1939

Sul comportamento dei colloïdi nucleari dalle ghiandole salivari
di chironomous plumosus. Esperienze di micromanipolazione
combinata con esperienze chimico-fisiche.
Boll. Zool. 10 149-162

21 - VON WILLER P. und AUDOVA A. 1933

Mikrodissektion an der Speicheldrüsen von Chironomus
Protoplasma 19 228-241.

22 - WADA B. 1938

Mikrodissektion der chromosomen von Tradescantia reflexa
Cytologia 4 222-228.

VII - MICROCHIRURGIE SUR LES CELLULES DE MAMMIFERES

1 - BARBER M.A. 1914

The pipette method in the isolation of single micro-organisms and in the inoculation of substances into living cells.

The Philippine J. of Science 9 308-358

2 - CHAMBERS R. and FELL H.B. 1931

Micro-operations on cells in tissue culture
Proc. Roy. Soc. London 109 380-403

3 - CHAMBERS R. and LUDFORD R.J. 1932

Microdissection studies on malignant and non malignant tissue cells.

Arch. Für Exptl. Zellforsch. 12 555-569

4 - CHAMBERS R. and RENYI G. de 1925

The structure of the cells in tissues as revealed by microdissection I : The physical relationships of the cells in epithelia.

Amer. J. Anat. 35 385

5 - CROCKER T.C. , GOLDSTEIN L. and CAILLEAU R. 1956

Survival of enucleate cytoplasm of human cells in tissue culture.

Science 124 935 Abstr.

6 - FONBRUNE P. de et REULARD P. 1933

Etude cinematographique des effets cytopathogènes du virus de Rubarth en "microcultures" cellulaires spéciales.
Ann. Inst. Pasteur 104 335-346

7 - GOLDSTEIN L. , CAILLEAU R. and CROCKER T.T. 1960

Nuclear cytoplasmic relationships in human cells in tissue culture II : the microscopic behavior of enucleate human cell fragments.

Exptl. cell. Res. 19 332-342

- 8 - GOLDSTEIN L. and EASTWOOD J.M. 1964

Micrurgy of tissue culture cells

In : Méthods in cell Physiol. I 403-416 D.M. Prescott Ed.

- 9 - KOHEN E. LEGALLAIS V. and KOHEN C. 1966

An introduction to microelectrophoresis and microinjection techniques in microfluorimetry.

Exptl. cell Res. 41 223-226

- 10 - MUNRO T.R. 1960

A technique that permits micromanipulation and long term study of single HeLa cells and their progeny

Exptl. cell Res. 19 291 - 298.

- 11 - MUNRO T.R. and DANIEL M.R. 1965

Effects of microoperations on the morphology survival and lysosomes of chinese Hamster fibroblasts.

Exptl. cell Res. 38

- 12 - POMERAT C.M. and SEVRINGHAUS E.L. 1943

Ann. N.Y. Acad. Sci. 58 971-1326

- 13 - SIMMEL A. 1931

Mikrurgische Untersuchungen an Erythrocytes und Leukocyten.

Zeit. Ges. Exp. Med. 75 179-181

VIII - ETUDE DU METABOLISME CELLULAIRE

=====

1 - BRACHET J. 1955

Recherches sur les interactions biochimiques entre le noyau et le cytoplasme chez les organismes unicellulaires
 Biochim. Biophys. Acta 18 247-268

2 - BYERS T.J. PLATT D.B. and GOLDSTEIN L. 1963 a

The cytonucleoproteins of Amoebae I : Some chemical properties and intracellular distribution
 J. Cell. Biol. 19 456-466.

3 - BYERS T.J., PLATT D.B. and GOLDSTEIN L. 1963 b

The cytonucleoproteins of Amoebae II : Some aspects cytonucleoproteins behavior and synthesis.
 J. cell. Biol. 19 467-475

4 - GOLDSTEIN L. and PLAUT W. 1955

Direct evidence for nuclear synthesis of cytoplasmic RNA
 Proc. Natl. Acad. Sci. U.S. 41 874-880

5 - HAWKINS S.E. and DANIELLI J.F. 1961

Investigation of free amino acid differences in Amoebae
 Exptl. cell. Res. 23 504-509

6 - HILLER S. 1927

Action of narcotics on the Amoeba by means of microinjection and immersion.
 Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 24 938

7 - PRESCOTT D.M. and GOLDSTEIN L. 1967

Nuclear cytoplasmic interaction in DNA synthesis
 Science 155 469-471

IX - METHODES ANNEXES DE MICROCHIRURGIE

=====

1 - BARSKI G. et BELEHRADEK J. 1963

Transfert nucleaire intercellulaire en cultures mixtes in vitro.

Exptl. cell Res. 29 102-111

2 - COMANDON J. et FONBRUNE P. de 1931

Destruction in vitro de globules rouges de grenouille par *Lankesterella minima*.

C.R. Soc. Biol. 107 450

3 - HARRIS H. and WATKINS J.F. 1965

Hybrid cells derived from mouse and man artificial heterozygotes of mammalian cells from different species. Nature 205 640-646.

4 - HOSKINS G.C. and MONTGOMERY P. O'B 1962

Nucleolar phagocytosis by Hela and Charny liver cells in tissue culture as studied by time lapse contrast cinematography

Exptl. cell Res. 26 534-540

5 - KLEIN R.L. and NEFF R.J. 1960

Osmotic properties of mitochondria isolated from *Acanthamoeba* S.P.

Exptl. cell Res. 19 133-155

6 - MARCUS P.I. and FREIMAN M.G. 1966

A novel method for cutting giant cells to study viral synthesis in anucleate cytoplasm.

In : Methods in cell physiol. 2 93-III D.M. Prescott Ed.

7 - SKREB Y. et EGER M. 1967

Effet restaurateur d'une basse température sur la survie, le taux de RNA et des protéines sur des amibes irradiées

C.R. Acad. Sci. 264 477-480

8 - SKREB Y. and HORVAT D. 1966

Influence of gamma-radiation on the incorporation of
 ^{14}C -Adénine and ^{14}C -Phényl-alanine into whole Amoebae and
nucleate and anucleate Amoeba.
Exptl. cell. Res. 43 639-644

9 - SKREB Y. et HORVAT D. 1967

Interactions de l'Actinomycine D et de l'irradiation gamma
chez les Amibes.
C.R. Acad. Sci. 264 340-343

10 - TARTAR V. 1964

Experimental techniques with ciliates
In : Methods in cell Physiol. I 109-125 D.M. Prescott Ed.

11 - TCHAKOTINE S. 1939

Analyse du mécanisme de la cyclose chez la paramécie au
moyen de la micropuncture U.V.
C.R. Soc. Biol. 130 738-740

12 - WILLIAMS G.Z. 1957

Direct observation of cellular absorption by ultraviolet
television microscopy
J. Histochem. and Cytochem. 5 246

13 - WOLSTENHOLME D.R. 1966

Electron microscopic identification of the interphase
chromosomes of Amoeba Proteus and Amoeba Discoïdes
using autoradiography with some notes on helices and
other nuclear components
Chromosoma 19 449-468

X - MICROMANIPULATION

1 - ANTOINE 1965

La résistance de la levure aux ions cuivriques II: *Saccharomyces cerevisiae* Yeast Foam. Influence des ions Cu^{++} sur l'apparition de cellules résistantes.
Exptl. cell Res. 37 278-291

2 - BRETEY J. et BROWAERTS 1944

Amélioration apportées aux techniques d'isolement des microorganismes par micromanipulation sur fond noir
C.R. Soc. Biol. 138 465

3 - MALONE R.H. 1918

A simple method for isolating small organisms.
J. Path. and Bacter. 22 222

4 - SKREB Y et EGER M. 1967

Effet restaurateur d'une basse température sur la survie le taux du RNA et des protéines sur des amibes irradiées
C.R. Acad. Sci. 264 477-480

5 - SKREB Y. and HORVAT D. 1966

Influence of gamma-radiation on the incorporation of ^{14}C -Adénine and ^{14}C -Phényl-alanine into whole amoebae and nucleate and anucleate *Amoeba* fragments.
Exptl cell Res. 43 639-644

6 - SKREB Y. et HORVAT D. 1967

Interactions de l'actinomycine D et de l'irradiation gamme chez les amibes.
C.R. Acad. Sci. 264 340-343

XI - DIVERS

=====

1 - CHAMBERS R. 1954

Micrurgical experiments on Amoeba and Echinoderm egg
Ann. Biol. Colloq. 15 15

2 - COMANDON J. et FONBRUNE P. de 1932

Sortie d'une hémogrégarine de son ksyte endoglobulaire
obtenue par une nouvelle technique de microdissection.
C.R. Soc. Biol. 111 999-1001

3 - COMANDON J. et FONBRUNE P. de 1937

Mecanismes de la préhension de microbes et absorbtion
de bulles d'air par une amibe Amoeba Terricola.
C. R. Soc. Biol. 124 634-636

4 - DANIELLI J.F. 1954

Symposia of Spc. for Exptl. Biol. 8 502

5 - DANIELLI J.F. 1956

Nature 178 214

6 - DANIELLI J.F. 1959 a

The coll to cell transfer of nuclei in amoebae and a
comprehensive cell theory
Ann. N.Y. Acad. Sci. 78 675

7 - DANIELLI J.F. and BARNARD P. 1958

Brit. Emp. Cancer Camp. Report

8 - DANIELS E.W. 1958

The use of large Amoeba in the analysis of basic biological
problems. A nine page demonstration on micrurgy distributed
as handouts.
Nat. Record. 131 514

9 - DANIELS E. W. 1959

Micrurgical studies on irradiated *P. lomyxa*
Ann. N.Y. Acad. Sci. 78 662-674

10 - GOLDSTEIN L. 1963

Protoplasmatologia Springer Verlag Vienna

11 - HAMMERLING J. 1953

Intern. Rev. Cytol. 2 475

12 - LATTER J. 1928

A review of recent work on microdissection and micro-
injection of living protoplasm
J. Roy. Microsc. Soc. 48 300-313

13 - TCHAKOTINE S. 1936

Les protozoaires objets d'expériences en cytologie expéri-
mentale
Ann. de Protist. 5

14 - YOW F. W. 1961

J. Protozool. 8 suppl. 18



agemp



EDITIONS

40 R. Pascal

PARIS 13°

TELEPHONE

535: 18-93

535: 18-62